

## III SEMINÁRIO

# *Iniciação Científica e Pós-Graduação*

*da Embrapa Tabuleiros Costeiros*

**ANAI**



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **III Seminário de Iniciação Científica e Pós-graduação da Embrapa Tabuleiros Costeiros**

*Embrapa  
Brasília, DF  
2013*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Tabuleiros Costeiros**

Av. Beira Mar, 3250  
49001-970 Aracaju, SE  
Fone: (79) 4009-1344  
Fax: (79) 4009-1399  
www.cpatc.embrapa.br  
cpatc.sac@embrapa.br

**Unidade responsável pelo conteúdo e edição**

Embrapa Tabuleiros Costeiros

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Ronaldo Souza Resende*

Secretária-executiva: *Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues*

Membros: *Ana Veruska Cruz, Edson Patto Pacheco, Élio César Guzzo, Hymerson Costa Azevedo, Joézio Luis dos Anjos, Josué Francisco da Silva Junior, Paulo César Falanghe Carneiro, Semíramis Rabelo Ramalho Ramos e Viviane Talamini*

Supervisão editorial

*Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues*

Normalização bibliográfica

*Josete Cunha Melo*

Capa

*Danilo Santos Nascimento*

Projeto gráfico e editoração eletrônica

*Ailla Freire de Azevedo*

**1ª edição**

CD-ROM (2013): 100 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Tabuleiros Costeiros

---

Seminário de Iniciação Científica e Pós-Graduação da Embrapa Tabuleiros Costeiros (3 : 2013 : Aracaju, SE).

III Seminário de Iniciação Científica e Pós-Graduação da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. – Brasília, DF : Embrapa, 2013.

1 CD-ROM.

ISBN 978-85-7035-227-9

1. Seminário. 2. Pesquisa. 3. Iniciação Científica I. Embrapa Tabuleiros Costeiros. II. Título.

CDD 630

---

©Embrapa 2013

# Comissão Organizadora

**Aline Gonçalves Moura Bonfim** - analista da Embrapa  
Tabuleiros Costeiros

**Eduardo Henrique R. de Oliveira** - analista da Embrapa  
Tabuleiros Costeiros

**Fernando Fleury Curado** - pesquisador da Embrapa  
Tabuleiros Costeiros

**Flávia Karine Nunes Pithan** - analista da Embrapa  
Tabuleiros Costeiros

**Leandro Eugenio Cardamone Diniz** - pesquisador da  
Embrapa Tabuleiros Costeiros

**Lilian Dias Dantas Silva** - analista da Embrapa Tabuleiros  
Costeiros

**Marcelo Ferreira Fernandes** - pesquisador da Embrapa  
Tabuleiros Costeiros

**Marcus Aurélio Soares Cruz** - pesquisador da Embrapa  
Tabuleiros Costeiros

**Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues** - analista da  
Embrapa Tabuleiros Costeiros

**Saulo Coelho Nunes** - analista da Embrapa Tabuleiros  
Costeiros

# Comitê Ad Hoc Externo

## **Francine Ferreira Padilha**

Bióloga, doutora em Ciências de Alimentos, pesquisadora do Instituto de Tecnologia e Pesquisa, Laboratório de Produtos Naturais e Sintéticos (ITPS), professora da Universidade Tiradentes (UNIT), bolsista de produtividade do CNPq, Aracaju, SE.

## **Leandro Bacci**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia, professor da Universidade Federal de Sergipe (UFS), bolsista de produtividade do CNPq, São Cristóvão, SE.

# **Apresentação**

O III Seminário de Iniciação Científica e Pós-Graduação da Embrapa Tabuleiros Costeiros tem por objetivo tornar públicos os resultados das atividades de pesquisa desenvolvidas por nossos bolsistas no período 2012-2013.

Esses resultados são frutos da interação dinâmica entre pesquisadores, analistas, assistentes e bolsistas, que resultam no aprimoramento recíproco e constante da formação técnico-científica das partes envolvidas.

Para a Embrapa Tabuleiros Costeiros, a realização deste evento, bem como o registro dos Resumos Expandidos das pesquisas desenvolvidas por estudantes bolsistas e pesquisadores, é motivo de grande satisfação, e ilustra a relevância dos programas de iniciação científica na formação de profissionais qualificados para atuação nas áreas de pesquisa e desenvolvimento agropecuários.

Agradecemos à FAPITEC-SE e ao CNPq pelo financiamento dos bolsistas por meio de Programas de Iniciação Científica e de Pós-Graduação.

Agradecemos à Dra. Francine Ferreira Padilha, da Universidade Tiradentes (UNIT), e ao Dr. Leandro Bacci, da Universidade Federal de Sergipe (UFS), por atuarem como avaliadores ad hoc deste evento.

Desejamos aos participantes que aproveitem toda riqueza de conhecimentos apresentados para o fortalecimento da habilidade do diálogo científico na sua essência. Um excelente evento para todos os participantes.

Edson Diogo Tavares  
Chefe-Geral da Embrapa Tabuleiros Costeiros

# Sumário

Caracterização Físico-química de Frutos de Cultivares de Bananeira nos Tabuleiros Costeiros .....	09
Efeito do Tempo de Imersão em Solução Crioprotetora e Desidratação na Regeneração de Ápices Caulinares de Jenipapeiro para Criopreservação .....	16
Avaliação de Sistemas de Cultivo de Milho na Transição Agreste/Tabuleiros Costeiros de Sergipe.....	25
Conservação de Grãos de Pólen de Coqueiro em Diferentes Condições de Armazenamento .....	33
Efeito da Adição de Ácidos Graxos Poli-Insaturados na Dieta Sobre a Cinética Espermática do Sêmen de Carneiros .....	39
Efeito da Adição de Ácidos Graxos Poli-Insaturados na Dieta Sobre Aspectos Quanti-qualitativos do Sêmen de Carneiros .....	48
Erosão Hídrica Laminar nos Sistemas de Cultivo de Milho no Agreste Sergipano.....	56
Análise da Variabilidade Genética dos Isolados de <i>Thielaviopsis paradoxa</i> e Detecção no Solo por PCR em Tempo Real .....	64
Indução da Calogênese em <i>Caesalpinia pyramidalis</i> T. ....	72
Revigoração e Patogenicidade do Isolado CPATC 032 do Fungo Entomopatogênico <i>Beauveria bassiana</i> .....	78
Diversidade Genética de Germoplasma de Nim Indiano Utilizando Marcadores ISSR.....	84
Transformação Genética de <i>Musa</i> spp. com Promotor de Expressão Gênica Tecido-específico Parcialmente Deletado .....	89
Isolamento e Clonagem do Promotor Tecido-específico Completo e Transformação Genética de <i>Musa</i> spp.....	95

Monitoramento da Incidência de Enfezamentos Causados por Molicutes e de Cigarrinhas na Cultura de Milho no Estado de Sergipe.....	101
Estudo da Epidemiologia da Resinose do Coqueiro em Sergipe.....	107
Avaliação Preliminar de Acessos de Coqueiro-gigante em Duas Épocas .....	114
Caracterização Molecular de Acessos de Coqueiro-Gigante via Marcadores SSR.....	119
Atributos Microbiológicos do Solo em Diferentes Densidades de Plantio da Gliricídia no Pomar Cítrico .....	124
Taxa de Diluição e Tipo de Recipiente de Envase na Criopreservação do Sêmen de Tambaqui .....	132
Caracterização Socioeconômica, Produtiva e Ambiental de Assentamentos Rurais em Sergipe .....	139
Impacto da Remoção da Palhada de Áreas de Dultivo de Cana-de-açúcar Colhida Sem Queima Sobre a Estrutura da Comunidade Microbiana do Solo.....	145
Adubação Orgânica em Campos de Multiplicação de Sementes Crioulas de Milho no Agreste Paraibano .....	153
Susceptibilidade de Variedades Copa e Porta-enxerto de Citros ao Ácaro-da-falsa-ferrugem (Phyllocoptruta oleivora) (Acari: Eriophyidae) .....	161
Obtenção de Parâmetros para Simulação Hidrológica na Bacia do Rio Japarutuba por meio de Geotecnologias .....	168
Uso do Sêmen Criopreservado de Tambaqui no Processo de Reprodução Artificial .....	174
Avaliação de Genótipos de Capim-elefante para Produção de Biomassa Energética no Estado de Sergipe .....	183
Obtenção de Clones de Capim-elefante para Produção de Forragem Adaptados à Região dos Tabuleiros Costeiros e Baixada Litorânea do Nordeste .....	191
Prevalência de Fitonematoides em Canaviais Alagoanos .....	201
Fertilização de Ovócitos de Tambaqui com Sêmen in Natura .....	209



Produtividade de Cultivares de Morango em Sistema de Cultivo Orgânico na Região Sul de Sergipe.....	218
Ganho de Peso de Cordeiros Terminados em Confinamento e Alimentados com Manipueira .....	226
Avaliação de Acessos de Coqueiro-anão em Função dos Descritores de Inflorescência .....	233
Impactos de Sistema de Colheita da Cana-de-açúcar sobre a Biomassa Microbiana do Solo e as Atividades de Enzimas dos Ciclos de C, P e S.....	238

# Caracterização Físico-química de Frutos de Cultivares de Bananeira nos Tabuleiros Costeiros

*José Edmário dos Santos<sup>1</sup>; Tatiana Nascimento Santos<sup>2</sup>; Tulio Nunes Calasans<sup>3</sup>; Ana da Silva Léo<sup>4</sup>; Carlos Roberto Martins<sup>5</sup>*

## Resumo

A Embrapa Tabuleiros Costeiros e a Embrapa Mandioca e Fruticultura, por meio do Programa de Melhoramento Genético da Bananeira vem implantando nos últimos anos diversos ensaios de avaliação de genótipos de banana em diferentes regiões de Sergipe. O trabalho teve como objetivo avaliar e caracterizar a qualidade físico-química de diferentes genótipos de bananeira do subgrupo maçã, caipira e Gross Michel cultivada nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. O experimento foi instalado no campo experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros "Jorge do Prado Sobral" localizado no município de Nossa Senhora das Dores, Sergipe. Os cinco genótipos avaliados; Maçã, Princesa, Tropical (subgrupo Maçã) Caipira (Subgrupo Caipira) e Bucaneiro (Subgrupo Gros Michel) foram plantados no espaçamento 3,00 m x 2,00 m, em três blocos de observação. Foram avaliados o COMP - Comprimento do fruto (cm); DIASC - diâmetro do fruto sem casca (cm); DIACC - diâmetro do fruto com casca (cm); PFCC - peso do fruto com casca (g). Para as análises químicas foram avaliados o pH, sólido solúveis totais - SST (°Brix); Acidez Total Titulável - ATT (g de ácido málico/100 g de amostra); relação SST/ATT; Teor de Açúcares Redutores - TAR (g de glicose/100 g de amostra) e Teor de Açúcares Totais - TAT (mg de glicose/g de matéria seca). O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições. As médias das variáveis foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de

<sup>1</sup> Graduando de Licenciatura em Química da Universidade Federal de Sergipe, bolsista do PIBIC da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, edmario\_jedes2012@hotmail.com.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, mestre em Agroecossistemas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, tatyaloou@hotmail.com.

<sup>3</sup> Graduando de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal de Sergipe, bolsista PIBIC da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, tulionunes@hotmail.com.

<sup>4</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, ana.ledo@embrapa.br.

<sup>5</sup> Agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, carlos.r.martins@embrapa.br.

significância. Pela avaliação conjunta das características físico-químicas as cultivares Tropical e Princesa como opção para áreas de cultivo de banana 'Maçã' pela sua suscetibilidade ao mal-do-Panamá e Bucaneiro para uso agroindustrial.

**Palavras-chave:** Musa sp., melhoramento genético, pós-colheita.

## Introdução

A produção mundial é de aproximadamente 102,1 milhões de toneladas em uma área de 4,7 milhões de hectares. O Brasil é o quinto maior produtor 6,9 milhões de toneladas em uma área de 486 mil hectares (FAO, 2012). O Nordeste é a maior região produtora do país com uma produção 2,6 milhões de toneladas numa área de 203 mil hectares explorados na maioria por pequenos agricultores predominando a mão-de-obra familiar. Sergipe é o sétimo maior produtor da região Nordeste com aproximadamente 57 mil toneladas colhidos numa área de aproximadamente quatro mil hectares (IBGE, 2012).

Com o avanço dos programas de melhoramento genético da Embrapa, torna-se necessário estudar o comportamento produtivo e qualitativo das diferentes variedades em função de determinadas características edafoclimáticas e produtivas em locais específicos de produção. Além disso, aspectos de pós-colheita devem ser levados em consideração na indicação de cultivares que atendam as exigências dos consumidores. As características como aroma, sabor, textura e cor são influenciados predominantemente pela variedade, determinados pela composição química dos frutos como teor de ácidos, açúcares e compostos fenólicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A Embrapa Tabuleiros Costeiros e a Embrapa Mandioca e Fruticultura, por meio do Programa de Melhoramento Genético da Bananeira vem implantando nos últimos anos diversos ensaios de avaliação de genótipos de banana em diferentes regiões de Sergipe.

O trabalho teve como objetivo avaliar e caracterizar a qualidade físico-química de diferentes genótipos de bananeira do subgrupo maçã, caipira e Gross Michel cultivada nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe.

## Material e Métodos

O experimento foi instalado no campo experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros "Jorge do Prado Sobral" localizado no município de Nossa Senhora das Dores, Sergipe. Os cinco genótipos avaliados; Maçã, Princesa, Tropical (subgrupo Maçã) Caipira (Subgrupo Caipira) e Bucaneiro (Subgrupo Gros Michel) foram plantados no espaçamento 3,00 m x 2,00 m, em três blocos de observação. Para realizar a avaliação, os frutos centrais foram colhidos da segunda penca no segundo ciclo de produção. As frutas foram colhidas no estágio de maturação "¾ gorda" e armazenadas à temperatura ambiente até sua completa. Foram avaliados o COMP - Comprimento do fruto (cm); DIASC - diâmetro do fruto sem casca (cm); DIACC - diâmetro do fruto com casca (cm); PFCC - peso do fruto com casca (g).

Para as análises químicas foram avaliados o pH, sólido solúveis totais - SST (°Brix); Acidez Total Titulável - ATT (g de ácido málico/100 g de amostra); relação SST/ATT; Teor de Açúcares Redutores - TAR (g de glicose/100 g de amostra) e Teor de Açúcares Totais - TAT (mg de glicose/g de matéria seca).

Os frutos foram colhidos em plantas no segundo ciclo de produção no estágio de maturação "¾ gorda" e armazenadas à temperatura ambiente até sua completa maturação, sendo selecionadas três pencas de cada cacho e de cada penca um buquê constituído por cinco bananas (dedos). As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Ecofisiologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros onde foram avaliados o pH, utilizou-se uma alíquota de 10g da polpa, após foi diluída em 90 mL de água destilada e a leitura foi realizada através de pHmetro digital; a acidez total titulável - ATT 5 g da polpa foi diluída em 50 mL de água destilada, adicionando 3 gotas de fenolftaleína, foi utilizado como titulante o NaOH 0,1 N; os Açúcares redutores, 5g da amostra foi diluída em 100 mL e filtrada com lã de vidro. Foi usado como titulante a solução Fehling A e B mais 50 mL de água destilada; os Sólidos Solúveis Totais - SST leitura através do refratômetro; o Ratio: foi obtida pelo quociente de valores de SST e ATT e os açúcares totais - ART (TREVELYAN et al., 1952). O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições. As médias das variáveis foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

## Resultados e Discussão

Houve diferença estatística entre os genótipos para o comprimento do fruto, peso do fruto com e sem casca. O comprimento do fruto variou de 13,58 a 21,95 cm, sendo a cultivar Bucaneiro que apresentou maior comprimento, resultado esperado em função do maior tamanho dos frutos do subgrupo Gros Michel (Tabela 1). Entre as cultivares do subgrupo Maçã, a 'Tropical' foi superior a 'Princesa', quanto ao comprimento e o peso do fruto com casca. Não houve diferença para o diâmetro do fruto e a relação entre peso do fruto com casca e sem casca. As características de comprimento e de diâmetro do fruto são parâmetros importantes para a classificação das frutas destinadas ao consumo e no momento da compra (BORGES et al., 2004).

**Tabela 1.** Médias do Comprimento do fruto-COMP (cm); diâmetro do fruto-DIA (cm); PFCC - peso do fruto com casca - PFCS (g); PFCC - peso do fruto sem casca - PFSC (g) e a relação do PFCS/PFSC de frutos de cultivares de bananeira no segundo ciclo de produção no município de Nossa Senhora das Dores, SE. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2013.

Genótipos	COMP (cm)	DIA (mm)	PFCC (g)	PFSC (g)	Relação PFCC/PFCS
Maçã	15,65 bc	3,90 a	116,75 bc	112,36 ab	1,24 a
Princesa	13,58 c	3,48 a	90,46 c	69,63 b	1,30 a
Tropical	17,05 b	3,93 a	145,24 b	114,24 ab	1,29 a
Caipira	14,38 bc	3,43 a	101,94 bc	80,33 b	1,28 a
Bucaneiro	21,95 a	3,90 a	201,88 a	151,65 a	1,33 a
CV (%)	8,26	6,92	16,65	19,86	6,69
Média Geral	16,52	3,73	135,70	105,64	1,29

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Houve diferença estatística entre as cultivares para todas as características avaliadas (Tabela 2). As cultivares Caipira e Thap Maeo apresentaram maior pH quando comparada com as do subgrupo Maçã. As cultivares Maçã, Princesa e Caipira obtiveram maior SST em relação a 'Bucaneiro'. O atributo sólidos solúveis é de grande importância tanto para o consumo in natura quanto para a indústria de alimentos. Segundo Paiva et al. (1997), valores elevados de sólidos solúveis na matéria-prima implicam menor adição de açúcares menor tempo de evaporação da água, menor gasto de energia e maior rendimento do produto, resultando em maior economia no processamento.

**Tabela 2.** Médias do pH, sólido solúveis totais - SST ( $^{\circ}$ Brix); Acidez Total Titulável - ATT (g de ácido málico/100 g de amostra); relação SST/ATT; Teor de Açúcares Redutores - TAR (g de glicose/100 g de matéria seca) e Teor de Açúcares Totais - TAT (mg de glicose/g de matéria seca) de frutos de cultivares de bananeira no segundo ciclo de produção no município de Nossa Senhora das Dores, SE. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2013.

Genótipos	pH	SST	ATT	Relação SST/ATT	TAR	TAT
Maçã	4,66 b	25,95 a	1,10 a	24,59 ab	10,56 ab	801,82 ab
Princesa	4,74 b	28,05 a	1,11 a	27,29 ab	6,77 b	731,03 ab
Tropical	4,71 b	22,75 ab	1,29 a	18,26 b	16,41 a	702,57 b
Caipira	5,12 a	23,08 a	0,73 b	34,12 a	7,90 b	690,25 b
Bucaneiro	5,27 a	20,40 c	0,70 b	29,92 a	14,05 a	867,03 a
CV (%)	3,33	4,39	21,47	22,05	35,35	8,34
Média Geral	4,89	24,05	0,98	26,84	11,14	758,54

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os teores de sólidos solúveis são também importantes na determinação da qualidade da fruta, como indicador do teor de açúcares juntamente com ácidos, vitaminas, aminoácidos e algumas pectinas (STOVER et al., 1987; LOBO et al., 2005). As bananas do subgrupo Maçã apresentaram maior acidez quando comparado às demais cultivares. A relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável é um índice representativo da medição isolada dos açúcares ou da acidez, pois expressa a proporção açúcar/ácido, que resulta no sabor apresentado pelo fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Para essa variável observou-se que as cultivares Caipira e Bucaneiro forma superiores a 'Tropical'.

Para os açúcares redutores, que são os mais importantes do ponto de vista de sabor (OETTERER, 2006), as cultivares Tropical e Bucaneiro se destacaram em relação as demais e para os açúcares totais a 'Bucaneiro' foi superior a Tropical e Caipira.

## Conclusões

Pela avaliação conjunta das características físico-químicas as cultivares Tropical e Princesa como opção para áreas de cultivo de banana 'Maçã' pela sua suscetibilidade ao mal-do-Panamá e 'Bucaneiro' para uso agroindustrial.

## Agradecimentos

A Embrapa e a FAPITEC-SE pelo aporte de recursos financeiros e ao CNPq/FAPITEC-SE pela concessão de bolsa de iniciação científica.

## Referências

BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 245-255.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/ FAEPE, 2005. 735 p.

FAO 2012. **World production**. Disponível em: <[www.faostat.org.br](http://www.faostat.org.br)>. Acesso em: 06 de julho de 2013.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

IBGE 2012. **Produção agrícola municipal**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 07 de julho de 2013.

LOBO, M. G. GONZALES, M.; PEÑA, A.; MARRERO, A. Effects of ethylene exposure temperature on shelf life, compositions and quality of artificially ripened bananas (*Musa acuminata* AAA, cv. 'Dwarf Cavendish'). **Food Science and Technology International**, London, v. 11, n. 2, p. 99-105, 2005.

OETTERER, M.; SARMENTO, S. B. S. Propriedade dos açúcares. In: OETTERER, M.; REGISTRANO D'ARCE, M. A. B. SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. p. 135-564.

PAIVA, M. C. et al. Caracterização química dos frutos de quatro cultivares e duas seleções de goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n. 1, p. 57-63, 1997.

STOVER, R. H; SIMMONDS, N. W. **Bananas**. 3. ed. New York: Longman Scientific & Technical, 1987.

TREVELYAN, W. E.; FORREST, R. S.; HARRISON, J. S. Determination of yeast carbohydrates with the anthrone reagent. **Nature**, London, v. 11, n. 170, p. 626-7, 1952.



# Efeito do Tempo de Imersão em Solução Crioprotetora e Desidratação na Regeneração de Ápices Caulinares de Jenipapeiro para Criopreservação

**Francielen Paola de Sá<sup>1</sup>; Ana da Silva Lédo<sup>2</sup>; José Edmário dos Santos<sup>3</sup>; Milena Mascarenhas de Jesus Ribeiro<sup>4</sup>; Inácio Roque de Andrade Júnior<sup>5</sup>; Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>6</sup>**

## Resumo

A *Genipa americana* L. é uma planta tropical perene com relevância econômica, social e ambiental na região Nordeste do Brasil. A conservação dos recursos genéticos desta espécie possui grande relevância para os programas de melhoramento e para manutenção da sua diversidade genética. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes tempos de imersão em solução crioprotetora e tempo de desidratação em câmara de fluxo laminar na regeneração de ápices caulinares de *Genipa americana* para fins de conservação a longo prazo. Foram utilizados ápices caulinares encapsulados em alginato de sódio, estes foram imersos por 24 e 48 horas em solução 0,5 M de sacarose e, desidratados por 0, 2 e 4 horas em câmara de fluxo laminar, em seguida foram inoculados no meio de regeneração MS acrescido de 30 g/L de sacarose e 1 mg/L de BAP, gelificado com 4,5 g/L de Phytigel®. Aos 30 dias de cultivo foram avaliados o percentual de regeneração, o número de brotos emitidos, o comprimento da maior brotação e o número de folhas/ ápice caulinar de jenipapeiro. A imersão em solução crioprotetora de 0,5 M sacarose e a desidratação em câmara de fluxo laminar não altera a viabilidade dos ápices

<sup>1</sup> Engenheira-florestal, mestranda de Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE, francielenpaola@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, ana.ledo@embrapa.br.

<sup>3</sup> Graduando de Licenciatura em Química da Universidade Federal de Sergipe, bolsista do PIBIC da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, edmario\_jedes2012@hotmail.com.

<sup>4</sup> Graduanda de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Sergipe, bolsista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, milenarjm@gmail.com.

<sup>5</sup> Técnico em Química, assistente da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, inacio.andrade@embrapa.br.

<sup>6</sup> Bióloga, doutora em Biologia Celular, pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA, fernanda.souza@embrapa.br.

caulinares de jenipapeiro encapsulados. A imersão por 24 horas em solução crioprotetora de 0,5 M sacarose e desidratação por 2 horas em câmara de fluxo laminar apresenta potencial para uso em futuros trabalhos de criopreservação por encapsulamento-desidratação.

**Palavras-chave:** Criopreservação, crioprotetor, encapsulamento-desidratação, *Genipa americana*, sacarose.

## Introdução

*Genipa americana* L. pertence à família Rubiaceae, é uma essência florestal nativa da América do sul e central, popularmente conhecida como jenipapeiro. Esta espécie apresenta relevância socioeconômica e ambiental, devido seus atributos madeireiros, medicinais, cosméticos, e alimentícios. Além disso, é uma espécie tolerante a áreas inundadas, sendo assim indicada para compor áreas preservação permanente (LORENZI, 1992) e, devido sua rusticidade, abundante produção de sementes e produção de frutos atrativos para fauna é recomendada para recuperar áreas degradadas (VALERI, 2003).

As sementes do jenipapeiro são classificadas como intermediárias, ou seja, suportam a desidratação entre 7 e 10% do teor de água e não toleram baixas temperaturas durante períodos prolongados (CARVALHO, 2003), portanto a conservação em banco de sementes não é indicada. Desta forma, sua conservação ocorre predominantemente por meio de coleções de campo, nas quais necessitam de grande área de cultivo, altos custos de manutenção (poda, controle de pragas, propagação e fertilização), elevada suscetibilidade a perda por ataque de patógenos, falhas na identificação ou erros humanos, além do vandalismo e intempéries climáticas (ENGELMANN, 1991; STUSHNOFF, 1987).

Sendo assim, a criopreservação surgiu como uma técnica promissora para conservação a longo prazo desta espécie, além de ser um método complementar aos métodos convencionais de conservação. A criopreservação consiste na manutenção dos explantes vegetais (embriões somáticos e zigóticos, pólen, sementes, ápices e gemas, nós cotiledonares, células em suspensão e protoplastos) em temperatura ultra baixas fornecidas pelo nitrogênio líquido (-196° C) ou em sua fase de vapor (-150° C) (SANTOS, 2000), nestas temperaturas a movimentação de moléculas é reduzida paralisando temporariamente o metabolismo vegetal.

Diferentes métodos de criopreservação tem surgido para assegurar a viabilidade das células após a exposição a temperaturas ultra-baixas. A desidratação é uma etapa comum a todos os procedimentos de criopreservação, na qual visa preparar a estrutura vegetal a ser criopreservada, a fim de evitar danos causados pela cristalização da água intracelular (VIEIRA, 2000). A desidratação pode ser promovida pelo uso de crioprotetores ou pelo uso da câmara de fluxo laminar ou sílica gel que induzem a evaporação da água intra e extracelular.

Uma das técnicas de criopreservação é denominada de encapsulamento-desidratação que consiste na tecnologia de sementes sintéticas, no qual o material vegetal (explantes de 3 a 5 mm) é envolvido em solução de alginato de sódio seguido da desidratação promovida por crioprotetores, tais como a solução de sacarose em altas concentrações (0,3 a 1,5 M), seguido do uso da câmara de fluxo laminar ou sílica gel, após o rápido congelamento dos explantes em nitrogênio líquido (VIEIRA, 2000).

Apesar das potencialidades de uso do jenipapeiro não existem protocolos de criopreservação para esta espécie, desta forma estudos preliminares tornam-se prioritários. Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes tempos de imersão em solução crioprotetora e tempo de desidratação em câmara de fluxo laminar na regeneração de ápices caulinares de *Genipa americana* para fins de conservação a longo prazo.

## Material e Métodos

Plantas matrizes de jenipapeiro germinadas *in vitro* do acesso Oiteiros (OIT) foram cultivadas em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado 30 g/L de sacarose, 4,5 g/L de Phytigel®, com pH ajustado para  $5,8 \pm 1$  e autoclavado por 20 minutos a  $121 \pm 1^\circ \text{C}$  e pressão de 1,05 atm. Após quatro meses de cultivo, a partir daquelas plantas matrizes foram excisados ápices caulinares de aproximadamente 5 mm de comprimento e imersos em 100 ml do meio de cultura MS acrescido da solução de alginato de sódio 3% (m/v) e 2% de viscosidade, conforme metodologia de Soliman (2013). Em seguida, com auxílio da pipeta de Pasteur os explantes foram succionados e depositados na solução de 100 mM de cloreto de Cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) por 20 minutos, sob agitação, a fim de promover a polimerização das cápsulas contendo os explantes. Posteriormente, os encapsulados foram transferidos para meio MS líquido suplementado com 0,5 M de sacarose,

sob agitação a 100 rpm, onde permaneceram por 24 e 48 horas a  $25^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$  na ausência de luz.

Em câmara de fluxo laminar, as gemas encapsuladas foram colocadas em placas de Petri sobre papel filtro para retirada do excesso do meio de cultura e, desidratadas por diferentes períodos: 0, 2 e 4 horas em temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ). Os ápices caulinares encapsulados foram inoculados diretamente em meio MS suplementado com 30 g/L de sacarose, 1 mg/L BAP e 4,5 g/L Phytigel® e mantidos em sala de crescimento com temperatura controlada de  $25 \pm 2^{\circ} \text{C}$ , umidade relativa do ar média em torno de 70%, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de  $60 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Ao final da quarta semana após inoculação no meio de cultura, os explantes foram avaliados quanto à porcentagem de regeneração considerando o número de brotos emitidos por explante, comprimento do maior broto e número de folhas por ápice caulinar.

Os dados foram analisados segundo o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial  $2 \times 3$  (2 tempos de imersão nas soluções crioprotetoras  $\times$  3 tempos de desidratação), com 4 repetições, sendo cada parcela composta por 3 ápices caulinares. As médias das variáveis foram submetidas à análise de variância e foram ajustadas equações de regressão polinomial utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

## Resultados e Discussão

De acordo com a análise de variância (Tabela1) houve efeito do tempo de imersão na solução crioprotetora (I) para o número de brotos emitidos, comprimento da maior brotação e número de folhas/ ápice caulinar e do tempo de desidratação (D) em câmara de fluxo para número de brotos emitidos e número de folhas/ápice caulinar. Não houve efeito da interação dos fatores nas variáveis estudadas.

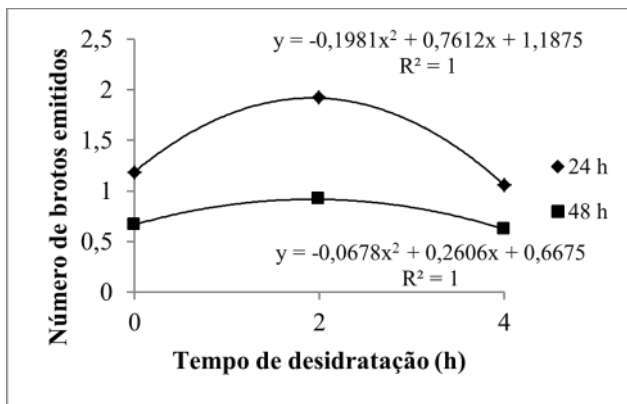
**Tabela 1.** Análise de variância do percentual de regeneração, número de brotos emitidos, comprimento da maior brotação e número de folhas por ápice caulinar de jenipapeiro (*Genipa americana* L.), submetidos ao processo do encapsulamento-desidratação com posterior imersão em solução de sacarose por 24 ou 48 horas, seguido da desidratação em câmara de fluxo laminar (0, 2 e 4 horas).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Regeneração %	No de brotos emitidos	Comprimento da maior brotação (cm)	Número de folhas
Imersão (I)	1	2.268.648.150 <sup>ns</sup>	2554537 <sup>**</sup>	0.375000 <sup>*</sup>	15041667 <sup>**</sup>
Desidratação (D)	2	20.252.317 <sup>ns</sup>	0.768404 <sup>**</sup>	0.207987 <sup>ns</sup>	12258229 <sup>**</sup>
I x D	2	263.273.150 <sup>ns</sup>	0.184537 <sup>ns</sup>	0.045338 <sup>ns</sup>	0.825904 <sup>ns</sup>
Resíduo	18	812.119.603	0.175538	0.098664	2.492.956
Total	23				
CV %		36.64	39.42	35.29	55.47

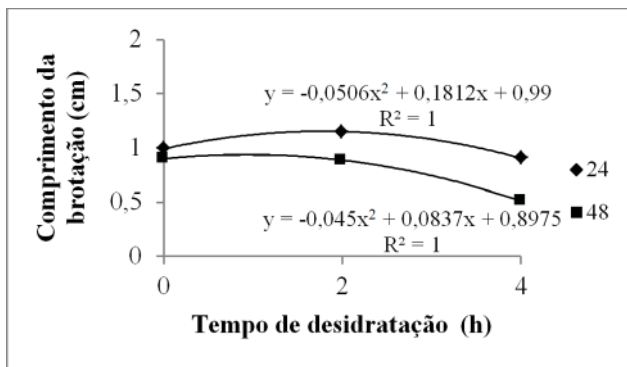
<sup>\*\*</sup> Significativo a 0,01 de probabilidade; <sup>\*</sup> Significativo a 0,05 de probabilidade; ns Não significativo.

A imersão dos explantes de jenipapeiro em solução de sacarose durante 24 horas proporcionou maiores resultados para número de brotos emitidos, comprimento da maior brotação e número de folhas/ ápice caulinar quando comparado com o tempo de 48 horas de imersão (Figuras 1, 2 e 3). Este resultado contrasta com o relatado por Santos (2004), na qual afirma que o nível de sacarose no meio

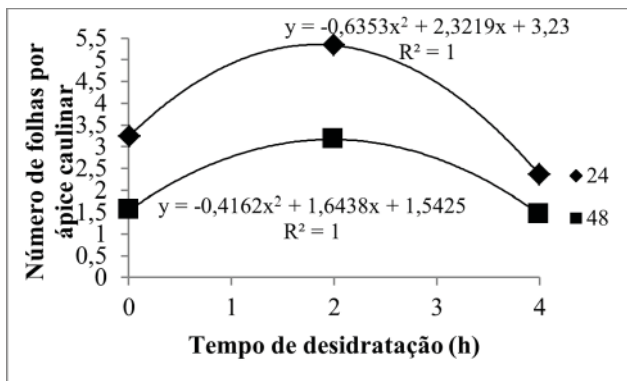
de pré-cultivo, assim como a duração da exposição do explante no meio, não influencia a recuperação após desidratação.



**Figura 1.** Número de brotos emitidos por ápices caulinares de jenipapeiro submetidos ao encapsulamento, em função do tempo de imersão (24 e 48 h) na solução crioprotetora e tempo de desidratação (0,2 e 4 h) em câmara de fluxo laminar.



**Figura 2.** Comprimento da brotação obtida a partir de ápices caulinares de jenipapeiro submetidos ao encapsulamento, em função do tempo de imersão (24 e 48 h) na solução crioprotetora e tempo de desidratação em câmara de fluxo laminar (0,2 e 4 h).



**Figura 3.** Número de folhas por ápices caulinares de jenipapeiro submetidos ao encapsulamento, em função do tempo de imersão (24 e 48 h) na solução crioprotetora e tempo de desidratação (0,2 e 4 h) em câmara de fluxo laminar.

O maior número de brotos (2 brotos/ápice caulinar) foi obtido para ápices caulinares encapsulados e imersos por 24 horas na solução de sacarose com posterior desidratação por duas horas em câmara de fluxo laminar (Figura 1). Este valor foi superior ao encontrado por Lopes (2005) que obteve 0,90 brotos de ápices caulinares encapsulados de algodoeiro.

Houve um comportamento quadrático em função do tempo de desidratação para a variável comprimento da brotação, obtida de ápices caulinares encapsulados de jenipapeiro (Figura 2). O maior valor obtido (1,15 cm) ocorreu em 24 horas de imersão dos explantes na solução crioprotetor combinado com duas de desidratação em câmara de fluxo laminar. Estes tratamentos também promoveram o maior valor para variável número de folhas/ápice caulinar (5,33 folhas), conforme Figura 3.

A regeneração dos ápices caulinares não foi afetada pelo encapsulamento, ou seja, 100% dos ápices caulinares encapsulados (dados não apresentados), e imediatamente cultivados *in vitro*, regeneraram. Resultados semelhantes foram observados por Santos (2004) para germinação dos eixos embrionários encapsulados de *Citrus*. De acordo com Paulet e outros (1993), o encapsulamento protege a estrutura embebida e a torna resistente a tratamentos que poderiam ser letais.

## Conclusões

A imersão em solução crioprotetora de 0,5 M sacarose e a desidratação em câmara de fluxo laminar não altera a viabilidade dos ápices caulinares de jenipapeiro encapsulados. A imersão por 24 horas em solução crioprotetora de 0,5 M sacarose e desidratação por 2 horas em câmara de fluxo laminar apresenta potencial para uso em futuros trabalhos protocolos de criopreservação.

## Agradecimentos

A Embrapa e FAPITEC-SE pelo aporte de recursos financeiros e a CAPES pela concessão de bolsa de mestrado.

## Referências

CARVALHO, P. E. R. **Jenipapeiro**. Colombo: Embrapa Florestas. 2003. 14 p. (Circular Técnica, 80).

ENGELMANN, F. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm - a review. **Euphytica**, Wageningen, v. 57, p. 227-243, 1991.

LOPES, K. P. **Criopreservação de germoplasma de oleaginosas de importância econômica para o nordeste brasileiro**. 2005. 155 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2005.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1992. p. 302.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

PAULET, F.; ENGELMANN, F.; GLAZMANN, J. C. Cryopreservation of apices of in vitro plantlets of sugarcane (*Sacharum* sp.) hybrids using encapsulationdehydration. **Plant Cell Reports**, New York, v. 12, p. 525-529, 1993.



SANTOS, I. R. I. Criopreservação de eixos embrionários de espécies de *Citrus* usando encapsulamento e desidratação. Documento 115, p. 17, Brasília - DF, 2004.

SANTOS, I.R.I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.12, p. 70-84, 2000. Edição Especial.

SOLIMAN, H. I. A. Cryopreservation of in vitro-grown shoot tips of apricot (*Prunus armeniaca* L.) using encapsulation-dehydration. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 12, n. 12, p. 1419-1430, 2013.

STUSHNOFF, C. Cryopreservation of apple genetic resources. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, p. 1151-1154, 1987.

VALERI, S. V.; PURETA, R.; CRUZ, M. C. P. Efeitos do fósforo do solo no desenvolvimento inicial de *Genipa americana* L. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 64, p. 69-77, 2003.

VIEIRA, M. L. C. Conservação de germoplasma *in vitro*. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, n. 14, p. 18-20, 2000.

# Avaliação de Sistemas de Cultivo de Milho na Transição Agreste/Tabuleiros Costeiros de Sergipe

*Gilmário Dantas da Silva<sup>1</sup>; Edson Patto Pacheco<sup>2</sup>; Inácio de Barros<sup>3</sup>; Carlos Roberto Martins<sup>4</sup>*

## Resumo

O monocultivo de milho no polo produtor de Sergipe tem sido apontado como fator de degradação dos solos do agreste, o que pode resultar em queda de produção e insustentabilidade no setor agrícola daquela região. O sistema plantio direto (SPD) tem sido uma prática amplamente utilizada em outras regiões do Brasil com sucesso na sustentabilidade de agrossistemas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a viabilidade do SPD na produção de milho consorciado com forrageiras na região de transição do Agreste/Tabuleiros Costeiro de Sergipe. Na região de transição agreste/tabuleiros costeiros o plantio direto não apresenta queda de produtividade em relação ao sistema convencional de preparo do solo, no início da conversão. A produtividade do milho não é comprometida devido ao cultivo consorciado com semeadura simultânea com espécies forrageiras. O cultivo de milho consorciado com espécies forrageiras apresenta potencial como alternativa para formação de cobertura morta no sistema plantio direto para integração lavoura/pecuária na transição agreste/tabuleiros costeiro de Sergipe.

**Palavras-chave:** manejo do solo, milho consorciado, semeadura simultânea.

<sup>1</sup> Graduando de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Sergipe, bolsista PIBIC da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, dantas-engflo@bol.com.br.

<sup>2</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Agromonia, pesquisador A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, inacio.barros@embrapa.br.

<sup>4</sup> Agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, carlos.r.martins@embrapa.br.

## Introdução

A produção de milho tem um papel de destaque no desenvolvimento do Nordeste brasileiro, sendo mais expressiva em áreas de cerrados situadas no oeste baiano, sul do Maranhão e sudoeste piauiense, e em áreas do agreste, localizadas nos estados da Bahia e Sergipe, onde predominam sistemas de produção mais tecnificados (CARVALHO et al., 2010).

O desenvolvimento de novas cultivares de milho, bem adaptadas e de alta produtividade, tem sido de suma importância para incrementar a produtividade da cultura em Sergipe. No entanto, além dos problemas normalmente associados ao monocultivo, como o esgotamento químico e microbiológico do solo, o aumento de pragas e doenças e as dificuldades adicionais no controle de plantas daninhas, a associação desta prática com o sistema convencional de preparo, deixam o solo altamente expostos ao processo erosivo. Como resultado deste processo, há perdas de grandes volumes de solos férteis, as quais são acompanhadas de redução da produtividade das lavouras e de danos sociais causados pelo assoreamento dos mananciais d'água, como o déficit hídrico em períodos de estiagem e enchentes devastadoras devido à diminuição de capacidade de vazão dos mananciais.

Sistemas de produção com componentes conservacionistas, como o plantio direto, rotação de culturas e sistemas de integração lavoura/pecuária, têm sido amplamente adotados em outras regiões do país para manter a cobertura do solo e preservar a sua matéria orgânica e estrutura, contribuindo efetivamente para sustentabilidade de agrossistemas (OLIVEIRA et al., 2001).

Devido ao regime de chuva limitado e a prática comum de pastejo dos restos culturais das lavouras de milho no agreste sergipano, a formação de cobertura morta tem sido um dos maiores desafios na conversão do sistema convencional para sistema plantio direto na região.

A inclusão de gramíneas e leguminosas forrageiras em integração com o milho tem o duplo propósito de produzir massa verde suplementar para a alimentação animal e palha para cobertura morta do solo, sobretudo na entressafra. Esta estratégia tem sido utilizada com sucesso em experimento com milho integrado com guandu no território Sul Sergipano (Umbaúba) (BARRETO; FERNANDES, 2009; 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade do sistema plantio direto na produção milho consorciado com forrageiras na região de transição do Agreste/Tabuleiros Costeiro de Sergipe.

## Material e Métodos

O estudo foi realizado por meio da execução de um experimento de campo, conduzido na safra 2012 em um Argissolo vermelho amarelo, textura argilosa, distrófico e relevo ondulado (EMBRAPA, 2006), na Estação Experimental Jorge Sobral da Embrapa Tabuleiros Costeiros localizada no município de Nossa Senhora das Dores, SE, com coordenadas geográficas 10°27'S e 37°11'W, altitude média de 200 m, temperatura média de 26°C e pluviosidade média anual de 1150 mm.

Antecedendo a aplicação de 1,2 Mg ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico, oito meses antes da implantação do experimento, a área experimental apresentou as seguintes características química: MO = 24,4 g kg<sup>-1</sup>; pH (H<sub>2</sub>O) = 4,6; Ca = 19,75 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg = 11,01 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al = 4,94 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; P = 5,05 mg dm<sup>-3</sup> e K = 37,45 mg dm<sup>-3</sup>.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições, e cinco tratamentos: 1) milho monocultivo em preparo convencional (MMPC), 2) milho monocultivo em plantio direto (MMPD), 3) milho consorcio braquiária em plantio direto (MBPD), 4) milho consórcio guandu em plantio direto (MGPD) e 5) milho consórcio braquiária e guandu em plantio direto (MBGPD).

Para o tratamento com preparo convencional (MMPC), o solo foi preparado com uma gradagem pesada, duas gradagens niveladoras e controle do mato em pré-emergência com herbicida Atrazina. Para os tratamentos em plantio direto, o controle do mato foi realizado com herbicida Glyphosato, no sistema "aplique plante".

A semeadura mecânica simultânea do milho com brachiaria e/ou guandu, foi realizada utilizando a técnica da mistura das sementes das forrageiras com o fertilizante, com regulação de distribuição no sulco de plantio abaixo das sementes de milho, que foram distribuídas com densidade de semeadura de 70.000 sementes de AG 70088 RR por ha. A adubação foi realizada na proporção de

200 80 100 kg ha<sup>-1</sup> de N P K, respectivamente, sendo que todo N foi colocado em cobertura quando o milho apresentava quatro folhas.

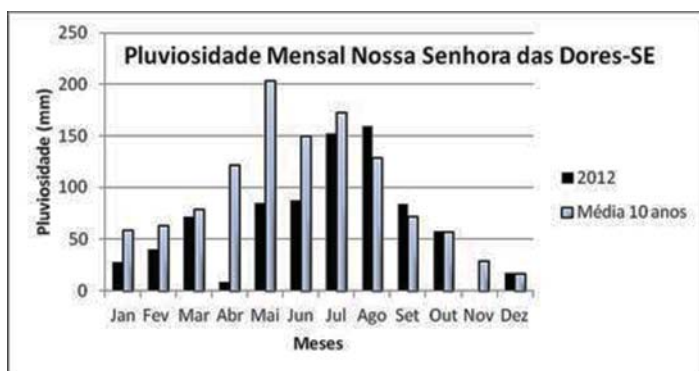
As 20 parcelas experimentais apresentavam dimensões de 14 x 40 m (560 m<sup>2</sup>), correspondendo a 28 linhas de plantio no espaçamento de 0,5 m, com 40 m de comprimento. Todas as operações de preparo do solo, pulverizações, semeadura, e colheita foram realizadas mecanicamente, com exceção da adubação de cobertura que foi manual.

Vale ressaltar que devido ao atraso do início das chuvas, a semeadura foi realizada no dia 15 de junho de 2012 com atraso de 30 dias, considerando que o período normal da região ocorre na primeira quinzena de maio.

A colheita mecânica (Figura 2) das parcelas foi realizada na primeira quinzena de dezembro, quando os grãos de milho apresentavam 13% de umidade, para cálculo da produtividade em kg ha<sup>-1</sup>. Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste de média Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

Na Figura 1 estão representadas as médias de pluviosidade mensais para a região de Nossa Senhora das Dores, SE, para o ano de 2012 e média dos últimos 10 anos. Conforme descrito na metodologia, houve um atraso do início das chuvas, resultado no atraso de aproximadamente 30 dias na data de plantio, além da diminuição do volume total previsto por ano na região de 1150 mm para 791 mm (Figura 1).



**Figura 1.** Pluviosidade média mensal para o município de Nossa Senhora das Dores, SE.

Após a semeadura em solo com umidade próxima a da capacidade de campo, ocorreu uma estiagem de sete dias, o que provocou um atraso de seis dias na germinação das parcelas de plantio direto em relação às parcelas de preparo convencional. A estiagem após a semeadura também provocou uma irregularidade na germinação das sementes das forrageiras que foram distribuídas no sulco de plantio junto com o fertilizante.

Mesmo com a irregularidade pluviométrica e da germinação das sementes de milho, foram obtidas produtividades satisfatórias, ultrapassando 8500 kg ha<sup>-1</sup>, não havendo diferença estatística, ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos (Tabela 1). Existem vários relatos da queda de produtividade em detrimento à conversão do sistema de preparo convencional do solo para plantio direto, fato esse que não ocorreu no experimento original deste trabalho.

**Tabela 1.** Produtividade e lucratividade média e de milho para os cinco sistemas de cultivo em Nossa Senhora das Dores, SE.

Tratamento	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )	Custo (R\$ ha <sup>-1</sup> )	Renda Bruta (R\$ ha <sup>-1</sup> )	Renda Líquida (R\$ ha <sup>-1</sup> )
MMPC	8862 a	3105,00	5170,00 a	2065,00 a
MMPD	8737 a	2850,00	5097,00 a	2247,00 a
MBPD	8702 a	2941,00	5076,00 a	2135,00 a
MGBPD	8512 a	3055,00	4965,00 a	1910,00 a
MBGPD	8748 a	3148,00	5103,00 a	1955,00 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Skott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Mesmo não obtendo cobertura morta do solo adequada, alguns produtores têm adotando o sistema plantio direto no polo produtor de milho de Sergipe, principalmente devido ao menor custo da implantação da lavoura quando comparamos o tratamento MMPD com o MMPC, resultando em uma maior renda líquida, em valores absolutos, devido à economia com a operação de preparo do solo (Tabela 1). Outro fator importante a ser considerado é quanto à “janela de plantio”, ou seja, no plantio direto diminuem os tempos perdidos nas operações de preparo do solo devido a fatores climáticos, causa frequente do atraso da data de plantio, que combinado com a irregularidade da distribuição das chuvas no período de floração pode resultar em frustração de safra.

Quanto aos tratamentos com cultivo do milho em consórcio com semeadura simultânea de forrageiras, também não foi observada queda de produtividade devido à competição da braquiária ou guandu com o milho (Tabela 1). Isso pode

ser atribuído ao desenvolvimento inicial lento dessas espécies causado pela maior profundidade de semeadura e ao espaçamento reduzido (0,5 m entre linhas), que proporciona um rápido fechamento das entre linhas pelas plantas de milho, também importante para melhor controle de plantas daninhas.

Após a colheita do milho, o guandu quando submetido à poda apresenta excelente capacidade de rebrota. Como seu sistema radicular já se encontra desenvolvido em profundidade, consegue tolerar bem o período seco, sendo capaz de produzir quantidades consideráveis de biomassa durante a estiagem, que varia de 5 a 8 t ha<sup>-1</sup> (BARRETO; FERNANDES, 2010).

Barreto e Fernandes (2011) concluíram que não houve redução na produtividade de milho em função do cultivo simultâneo do guandu e é possível incrementar expressivamente a quantidade de fitomassa produzida durante a estiagem, o que contribui para aumentar o aporte de resíduos ao solo e o potencial de promoção de melhorias na qualidade dos solos de Tabuleiros Costeiros.

O guandu apresenta um desenvolvimento inicial mais lento, permitindo ao milho completar seu ciclo sem sofrer competição significativa, ao mesmo tempo, que, suporta bem a forte competição exercida pelo milho, e, à medida que o milho avança no período de senescência, o guandu retoma seu crescimento de forma mais acelerada e se desenvolve satisfatoriamente (BARRETO; FERNANDES, 2005).

O plantio de espécies forrageiras consorciadas com culturas anuais tem se mostrado uma técnica eficiente e economicamente viável como método de formação, recuperação e renovação de pastagens (JAKELAITIS et al., 2004; 2005). O estabelecimento do consórcio pode acontecer por meio da semeadura simultânea da cultura anual e da forrageira, ou a partir da semeadura da cultura anual e da germinação natural da forrageira de sementes existentes no solo. Após a colheita da cultura anual, tem-se a pastagem formada e disponível para utilização animal ou formação de cobertura.

## Conclusões

Na região de transição agreste/tabuleiros costeiros o plantio direto não apresenta queda de produtividade em relação ao sistema convencional de preparo do solo, no início da conversão.

A produtividade do milho não é comprometida devido ao cultivo consorciado com semeadura simultânea com espécies forrageiras.

O cultivo de milho consorciado com espécies forrageiras apresenta potencial como alternativa para formação de cobertura morta no sistema plantio direto para integração lavoura/pecuária na transição agreste/tabuleiros costeiro de Sergipe.

## Referências

BARRETO, A. C.; FERNANDES, M. F. **Adubação verde com leguminosas em cultivo intercalar com a cultura do milho**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2005. 15 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de Pesquisa, 7).

BARRETO, A. C.; FERNANDES, M. F. Avaliação de métodos de preparo do solo e sistemas de cultivo de milho na ecorregião dos tabuleiros costeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 32., 2009, Fortaleza. Resumos... Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2009.

BARRETO, A. C.; FERNANDES, M. F. **Cultivo de milho consorciado com guandu em sistema de plantio direto em solos dos Tabuleiros Costeiros**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2010. 6 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Circular Técnica, 61).

CARVALHO, H. W. L. de et al. **Desempenho de híbridos simples no Nordeste brasileiro: safra 2008/2009**. Aracaju: EMBRAPA-CPATC, 2010. 20 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Comunicado Técnico, 90).

SANTOS, H. G. dos et al. (Ed.). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.

JAKELAITIS, A. et al. Manejo de plantas daninhas no consórcio de milho com capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*). **Planta Daninha**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 553-560, 2004.

JAKELAITIS, A. et al. Influência de herbicidas e sistemas de semeadura de *Brachiaria brizantha* consorciada com milho. **Planta Daninha**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 59-67, 2005.



OLIVEIRA, J. O. A. P.; VIDIGAL FILHO, P. S.; TORMENA, C. A.; PEQUENO, M. G.; SCAPIM, C. A.; MUNIZ, A. S.; SAGRILO, E. Influência de sistemas de preparo do solo na produtividade da mandioca. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 25, p. 443-450, 2001.

# Conservação de Grãos de Pólen de Coqueiro em Diferentes Condições de Armazenamento

*Caroline de Araujo Machado<sup>1</sup>; Catrine Regina Feitosa Moura<sup>2</sup>; Ana da Silva Léo<sup>3</sup>; Semíramis Rabelo Ramalho Ramos<sup>4</sup>; Francisco Elias Ribeiro<sup>5</sup>*

## Resumo

O armazenamento do grão de pólen, além de possibilitar o cruzamento entre cultivares de ciclos diferentes, permite a perpetuação de populações de plantas macho-estéreis, utilizadas na formação de híbridos. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes condições de temperatura a longo prazo para o armazenamento de grãos de pólen dos acessos de coqueiro AVC e GPY. Foram selecionadas plantas com sete anos de idade dos acessos de coqueiro: AVC e GPY, do BAG de Coco da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Os grãos de pólen foram liberados das flores masculinas foram coletados do recipiente e acondicionados em criotubos para conservação de os grãos de pólen dos acessos e foram armazenados em diferentes de condições de armazenamento. O armazenamento foi realizado em diferentes condições de armazenamento: geladeira a -4 °C, freezer a -20 °C, freezer a -80 °C e nitrogênio líquido -196°C por 730 dias. Foi determinada a viabilidade dos grãos de pólen utilizando o corante carmim acético 1% e germinação in vitro em meio de Lora. Houve diferença significativa entre as condições de armazenamento, Sendo que o grão de pólen armazenado nas temperaturas de -4 °C, -20 °C e -80 °C obtiveram as melhores porcentagens de viabilidade por corante para os dois acessos. A melhor condição de armazenamento aos 730 dias para os acessos de coqueiro AVC e GPY é de -80 °C por germinação do tubo polínico. Nas temperaturas de -4 °C, -20 °C e -80 °C ambos os acessos apresentam maior viabilidade por corante carmim acético a 1%. O acesso GPY

<sup>1</sup> Bióloga, mestre em Agroecossistemas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, camachado1@hotmail.com.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, mestre em Biotecnologia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, catrinefeitosa@hotmail.com.

<sup>3</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, ana.ledo@embrapa.br.

<sup>4</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Melhoramento Genético de Plantas, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, semiramis.ramos@embrapa.br.

<sup>5</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, elias.ribeiro@embrapa.br.

apresenta maior viabilidade após 730 dias de conservação por germinação do tubo polínico.

**Palavras-chave:** *Cocos nucifera* L., recursos genéticos, conservação.

## Introdução

A introdução do coqueiro no Brasil e sua adaptação aos solos arenosos da costa brasileira permitiu o surgimento de uma classe produtora, ocupando um ecossistema com poucas possibilidades de outras explorações comerciais, cuja cadeia produtiva é muito diversificada e de grande significado social (SIQUEIRA et al., 2002).

O armazenamento do grão de pólen possibilita o cruzamento entre cultivares de ciclos diferentes, permite a perpetuação de populações de plantas macho-estéreis, utilizadas na formação de híbridos. Fatores como a duração do tempo de receptividade do estigma, longevidade do grão de pólen na planta, diferenças no período de florescimento entre plantas macho-férteis e macho-estéreis e conservação dos recursos genéticos são alguns aspectos que reforçam a importância da preservação da viabilidade de grãos de pólen durante o armazenamento, sob condições artificiais (GANESHAN, 1986).

Para o sucesso do armazenamento a médio e longo prazos, é necessário o domínio de técnicas de coleta, secagem, armazenamento e testes de viabilidade do pólen. Para isso, metodologias referentes a estas técnicas devem ser desenvolvidas, visto que cada espécie se porta diferentemente frente aos referidos processos, o que pode comprometer a viabilidade do pólen (SOUSA et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes condições de armazenamento a longo prazo de grãos de pólen dos acessos de coqueiro anão vermelho de Camarões - AVC e gigante da polinésia - GPY.

## Material e Métodos

Foram selecionadas plantas com sete anos de idade dos acessos de coqueiro: anão vermelho de Camarões (AVC) e Gigante da Polinésia (GPY), do BAG de Coco da Embrapa Tabuleiros Costeiros, situado no campo experimental de

Itaporanga, localizado em Itaporanga d'Ajuda-SE. Em cada planta matriz foi marcada uma espata próxima à maturação e antes da sua abertura as mesmas foram retiradas das plantas e armazenadas em recipiente plástico. Os grãos de pólen foram liberados das flores masculinas foram coletados do recipiente e acondicionados em criotubos para conservação de os grãos de pólen dos acessos GPY e AVC foram armazenados em diferentes de condições de armazenamento. O armazenamento foi realizado em diferentes temperaturas: -4 °C, -20 °C, -80 °C e -196°C. A viabilidade dos grãos de pólen foi avaliada por corante carmim acético a 1% e pela germinação in vitro utilizando o meio de Lora (LORA et al., 2006), depois de 730 dias de armazenamento. Para a avaliação da viabilidade por corante, uma amostra do pólen foi colocada em lâmina acrescentando-se uma gota de carmim acético 1% e homogeneizando-a. Em seguida, a lâmina foi colocada em placa de Petri e mantida em incubadora biológica por 25 a 30 minutos em temperatura de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Em microscópio Leica DMLS, objetiva 10x, as lâminas foram analisadas quanto ao número de grãos viáveis e inviáveis por quadrante. Foram considerados como grãos de pólen viáveis aqueles corados de vermelho (pela reação da presença de atividade enzimática) e com paredes intactas e como não viáveis os incolores ou corados de vermelho com ruptura das paredes. Para o cálculo da porcentagem foi considerada a seguinte fórmula: Viabilidade do pólen (%) =  $\text{N}^\circ \text{ de grãos corados} / \text{N}^\circ \text{ de grãos contados} \times 100$ .

O delineamento experimental de cada ensaio de seleção de meio de cultura foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 (quatro condições de armazenamento x 2 acessos de coqueiro) e três repetições. As médias da viabilidade dos grãos de pólen dos ensaios foram submetidas à análise da variância pelo teste de Tukey 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

## Resultados e Discussão

Houve diferença significativa entre as condições de armazenamento (Tabela 1). Sendo que o grão de pólen armazenado nas temperaturas de -4 °C, -20 °C e -80 °C obtiveram as melhores porcentagens de viabilidade por corante para os dois acessos.

**Tabela 1.** Viabilidade por corante aos 730 dias de acessos de coqueiro AVC e GPY em diferentes condições de armazenamento. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2013.

Condições de armazenamento	AVC	GPY
Geladeira a -4 °C	86,58 aA	80,57 aA
Freezer a -20 °C	86,05 aA	70,48 aB
Freezer a -80 °C	88,45 aA	89,96 bA
Nitrogênio Líquido a -196 °C	65,71 bA	65,71 cA
CV (%)	4,48	

Médias seguidas por letras maiúsculas na coluna e minúsculas na coluna e nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

De acordo com Sousa (2002), valores acima de 70% são considerados como alta viabilidade do pólen, de 31 a 69% como média e até 30%, baixa. Pelo método de corante todas as condições de armazenamento apresentaram alta viabilidade, entretanto pela germinação do tubo polínico (Tabela 2) a viabilidade foi média nas condições de armazenamento de -4 °C, -20 °C e 80 °C foram altas e para -196 °C foram as mais baixas. A temperatura de -80 °C para ambos os acessos (Tabela 2), foi a que possui maior porcentagem de germinação. Para o acesso GPY, as melhores temperaturas de armazenamento é -20 e -80 °C.

**Tabela 2.** Viabilidade por germinação *in vitro* do tubo polínico aos 730 dias de acessos de coqueiro AVC e GPY em diferentes condições de armazenamento. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2013.

Condições de armazenamento	AVC	GPY
Geladeira a -4 °C	0 cA	0 cB
Freezer a -20 °C	0 cA	63,60 bA
Freezer a -80 °C	18,41 aA	78,81 aA
Nitrogênio Líquido a -196 °C	3,02 bA	19,84 cA
CV (%)	21,69	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## Conclusões

A melhor condição de armazenamento aos 730 dias para os acessos de coqueiro AVC e GPY é de -80 °C por germinação do tubo polínico. Nas temperaturas de -4 °C, -20 °C e -80 °C ambos os acessos apresentam maior viabilidade por corante carmim acético a 1%. O acesso GPY apresenta maior viabilidade após 730 dias de conservação por germinação do tubo polínico.

## Agradecimentos

A Embrapa, Bioversity Internacional/COGENT e PROBIO/MMA pelo aporte de recursos financeiros e a CAPES pela concessão de bolsa de mestrado.

## Referências

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GANESHAN, S. Viability and fertilizing capacity of onion pollen (*Allium cepa* L.) stored in liquid nitrogen (-196°C). **Tropical Agricultural**, London, v. 63, n. 1, p. 46-48, 1986.

SIQUEIRA, L. A., ARAGÃO, W. M., TUPINAMBÁ, E. A. **A introdução do coqueiro no Brasil, importância histórica e agrônômica**. 2002. 24 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Documentos, 47). Disponível em: <<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>>.

SOUSA, V. A.; SCHEMBERG, E. A.; AGUIAR, A. V. Germinação in vitro do pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham) **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 86, p. 147-151, 2010.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1209-1217, 2002.

OETTERER, M.; SARMENTO, S. B. S. Propriedade dos açúcares. In: OETTERER, M.; REGISTRANO D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. p. 135-564.

PAIVA, M. C. et al. Caracterização química dos frutos de quatro cultivares e duas seleções de goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n. 1, p. 57-63, 1997.

STOVER, R. H.; SIMMONDS, N. W. **Bananas**. 3. ed. New York: Longman Scientific & Technical, 1987.

TREVELYAN, W. E.; FORREST, R. S.; HARRISON, J. S. Determination of yeast carbohydrates with the anthrone reagent. **Nature**, London, v. 11, n. 170, p.626-7, 1952.

# Efeito da Adição de Ácidos Graxos Poli-Insaturados na Dieta Sobre a Cinética Espermática do Sêmen de Carneiros

***José Eduardo Matos<sup>1</sup>; Tarsizio da Silva Santos<sup>2</sup>; Rebeca Santos da Silva<sup>3</sup>; Maiana Silva Chaves<sup>4</sup>; Ana Cláudia França de Freitas<sup>5</sup>; Pábola Santos Nascimento<sup>6</sup>; Allan Andrade Rezende<sup>7</sup>; Paulo César Falanghe Carneiro<sup>8</sup>; Alexandre Nizio Maria<sup>9</sup>; Anselmo Domingos Ferreira Santos<sup>10</sup>; Carollina Florido Pires<sup>11</sup>; Hymerson Costa Azevedo<sup>12</sup>***

## Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dietas com diferentes concentrações de ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $AGP \cdot Ca^{+}$ ) sobre a cinética espermática computadorizada do sêmen de carneiros. Foram utilizados 24 carneiros da raça Santa Inês (SI) distribuídos em quatro grupos experimentais que se diferiram na quantidade consumida diariamente de  $AGP \cdot Ca^{+}$  a partir da ingestão de uma dieta base como segue: G3 – grupo controle com 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de  $AGP \cdot Ca^{+}$  e, G6, G9 e G12 com adição de  $AGP \cdot Ca^{+}$  e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente. Um ejaculado de cada

<sup>1</sup> Zootécnico, mestre em Zootecnia, professor substituto da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>2</sup> Biólogo, mestrando de Recursos Naturais do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Médica-veterinária, mestranda de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>4</sup> Médica-veterinária, mestranda de Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

<sup>5</sup> Médica-veterinária, mestranda de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>6</sup> Médica-veterinária, mestranda de Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

<sup>7</sup> Médico-veterinário, mestrando de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

<sup>8</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Zootecnia, professor da Universidade Federal de Sergipe, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>9</sup> Zootécnico, doutor em Produção Animal, professor da Universidade Federal de Sergipe, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>10</sup> Médico-veterinário, doutor em Zootecnia, professor da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>11</sup> Graduanda em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>12</sup> Médico-veterinário, doutor em Reprodução Animal, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.



carneiro foi colhido totalizando 24 amostras de sêmen em cada momento do período experimental como segue: dia 0 (M0), aos 30 dias (M30), aos 60 dias (M60) e aos 90 dias (M90) do início da administração das dietas experimentais. Cada ejaculado foi avaliado quanto à cinética espermática computadorizada, sendo obtidos os seguintes parâmetros: motilidade total, motilidade progressiva, velocidade em linha reta, velocidade curvilínea, velocidade média do percurso, retilinearidade, linearidade, deslocamento lateral da cabeça e frequência de batimento flagelar cruzado. Não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) entre as variáveis independentes, grupo experimental e momento. Os grupos não diferiram significativamente entre si ( $P > 0,05$ ) quanto aos parâmetros de cinética. Observou-se que os parâmetros de cinética espermática apresentaram mudanças ( $P < 0,05$ ) ao longo do período experimental sendo que a maioria dos incrementos foram a partir dos 60 dias coincidindo, aproximadamente, com o ciclo completo da produção e liberação dos espermatozoides em ovinos. Conclui-se que a administração de dietas suplementadas com  $\text{AGP} \cdot \text{Ca}^+$  não tem influência sobre a cinética espermática do sêmen de carneiros.

**Palavras-chave:** gordura protegida, gordura inerte, espermatozoides, lipídios, sêmen, Santa Inês.

## Introdução

Entre as várias biomoléculas que exercem efeito sobre a fisiologia dos gametas masculinos estão os lipídios poli-insaturados que têm sido incorporados à dieta com o objetivo de proporcionar melhorias na qualidade do sêmen de várias espécies como em ovinos (FARAJI et al., 2012;). A dieta dos ruminantes, entretanto, não deve apresentar grandes concentrações de ácidos graxos poli-insaturados devido a seu efeito tóxico sobre os microrganismos, e consequentemente, diminuição da digestibilidade das fibras no rúmen (GRUNERT et al., 2005). Experimentos que envolvam a suplementação de óleos insaturados em dietas para ruminantes são beneficiados pela adição de um protetor que reduza a saturação dos ácidos graxos no rúmen, resultando em maior absorção no intestino (DE GRAAF et al., 2007). A gordura protegida no rúmen consiste basicamente em uma fonte de ácidos graxos insaturados, normalmente ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico protegidos, obtendo-se melhor aproveitamento de suas características particulares (CERVONI, 2011), por isso também é conhecida também como ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $\text{AGP} \cdot \text{Ca}^+$ ).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dietas com diferentes concentrações de  $\text{AGP} \cdot \text{Ca}^+$  sobre a cinética espermática do sêmen de carneiros.

## Material e Métodos

Foram utilizados 24 carneiros da raça Santa Inês (SI) contemporâneos, com idade entre 21 e 22 meses e peso vivo médio de 50 Kg, selecionados por meio de exames clínico-andrológicos. Os carneiros passaram por um período de adaptação de sete dias a uma dieta base (feno de capim tifton-85, milho triturado, farelo de soja, cloreto de sódio e fosfato bicálcico), formulada para atender as exigências de ganho mínimo de 100g/dia. Após o período de adaptação, os animais foram distribuídos aleatória e equitativamente em quatro grupos: G3, G6, G9 e G12. Os grupos experimentais diferiram-se na quantidade consumida diariamente de  $\text{AGP} \cdot \text{Ca}^+$  a partir da ingestão da dieta base formulada sem e com adição de diferentes níveis de Megalac-E® (Church & Dwight Co., Nova Jersey, EUA): G3 - grupo controle com 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de  $\text{AGP} \cdot \text{Ca}^+$  e, G6, G9 e G12 com adição de  $\text{AGP} \cdot \text{Ca}^+$  e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente. Durante todo o período experimental os alimentos foram fornecidos na forma de dieta total, com consumo ad libitum de água e das dietas.

Um ejaculado de cada carneiro foi colhido por meio de vagina artificial, totalizando 24 amostras de sêmen em cada momento do período experimental como segue: dia 0 (M0), aos 30 dias (M30), aos 60 dias (M60) e aos 90 dias (M90) do início da administração das dietas experimentais. Cada ejaculado foi avaliado quanto à cinética espermática computadorizada utilizando-se o Sperm Class Analyzer (SCA®), sendo obtidos os seguintes parâmetros dos espermatozoides (SPTZ): motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade em linha reta (VSL), velocidade curvilinear (VCL), velocidade média do percurso (VAP), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), deslocamento lateral da cabeça (ALH) e frequência de batimento flagelar cruzado (BCF).

Os dados foram analisados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade da distribuição dos resíduos. Os dados normais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias ao teste Scott-Knott, ao nível de significância de 5% de probabilidade. As médias que apresentaram diferença foram submetidas a análise de regressão. As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2000).

## Resultados e Discussão

A análise dos dados indicou que não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) entre as variáveis independentes, grupo experimental e momento (Tabela 1). Os grupos não diferiram significativamente entre si ( $P > 0,05$ ) quanto aos parâmetros de cinética.

**Tabela 1.** Efeito dos diferentes níveis de ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $\text{AGP} \cdot \text{Ca}^+$ ) na dieta de carneiros sobre a cinética espermática analisada por computador.

Parâmetro	Grupo <sup>1</sup>	Momento <sup>2</sup>	
		M0	M30
Motilidade total (%)	G3	93,27 ± 3,89	94,47 ± 1,03
	G6	88,38 ± 6,82	91,05 ± 10,00
	G9	91,39 ± 5,57	97,21 ± 2,39
	G12	84,97 ± 7,86	96,86 ± 1,40
	Média	89,53 ± 6,54B	94,90 ± 5,47A
Motilidade progressiva (%)	G3	45,82 ± 6,79	48,86 ± 7,23
	G6	49,80 ± 6,50	46,07 ± 13,01
	G9	53,67 ± 3,78	52,64 ± 10,38
	G12	52,68 ± 6,96	54,59 ± 3,34
	Média	50,49 ± 3,52B	50,54 ± 3,81B
Velocidade em linha reta ( $\mu\text{m/s}$ )	G3	101,49 ± 17,58	97,30 ± 11,63
	G6	97,13 ± 19,39	94,88 ± 18,64
	G9	94,58 ± 8,33	104,03 ± 7,58
	G12	92,59 ± 8,36	110,28 ± 10,96
	Média	96,45 ± 3,84B	101,62 ± 6,95B
Velocidade curvilinear ( $\mu\text{m/s}$ )	G3	232,86 ± 31,83	233,68 ± 25,34
	G6	216,76 ± 50,31	225,32 ± 42,98
	G9	217,56 ± 26,81	248,35 ± 23,62
	G12	213,92 ± 23,20	258,61 ± 31,06
	Média	220,27 ± 8,53B	241,49 ± 14,86B

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

Parâmetro	Momento <sup>2</sup>		Média
	M60	M90	
Motilidade total (%)	96,35 ± 1,87	96,39 ± 3,81	95,15 ± 3,03
	95,90 ± 3,59	92,67 ± 6,29	92,00 ± 7,14
	96,83 ± 2,17	95,94 ± 2,27	91,53 ± 3,79
	95,47 ± 4,16	95,81 ± 1,60	93,28 ± 6,19
	96,14 ± 2,93A	95,20 ± 3,97A	
Motilidade progressiva (%)	58,14 ± 5,34	63,67 ± 6,70	54,12 ± 8,24
	61,77 ± 6,44	66,85 ± 13,57	56,12 ± 9,80
	63,65 ± 8,68	65,77 ± 6,58	58,93 ± 6,74
	64,07 ± 6,51	68,05 ± 7,19	59,85 ± 7,40
	61,90 ± 2,70A	66,08 ± 1,86A	
Velocidade em linha reta (μm/s)	135,67 ± 15,11	134,77 ± 10,91	117,30 ± 20,76
	141,10 ± 14,49	143,08 ± 24,02	119,04 ± 26,64
	146,17 ± 10,12	131,04 ± 14,45	118,95 ± 23,83
	144,11 ± 12,61	137,35 ± 12,98	121,08 ± 23,97
	141,76 ± 4,56A	136,56 ± 5,06A	
Velocidade curvilínea (μm/s)	297,08 ± 22,45	294,10 ± 19,55	264,61 ± 36,22
	296,08 ± 25,75	290,81 ± 30,94	257,24 ± 42,00
	308,82 ± 19,97	281,40 ± 28,29	264,03 ± 39,64
	298,12 ± 20,35	283,95 ± 17,32	263,65 ± 36,96
	300,20 ± 5,81A	287,57 ± 5,90A	

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Parâmetro	Grupo <sup>1</sup>	Momento <sup>2</sup>	
		M0	M30
Velocidade média do percurso ( $\mu\text{m/s}$ )	G3	133,56 $\pm$ 19,99	128,39 $\pm$ 14,19
	G6	125,04 $\pm$ 28,65	126,08 $\pm$ 25,08
	G9	122,21 $\pm$ 12,67	137,27 $\pm$ 9,72
	G12	117,56 $\pm$ 13,83	144,84 $\pm$ 14,26
	Média	124,59 $\pm$ 6,73B	134,14 $\pm$ 8,61B
Retilinearidade (%)	G3	75,78 $\pm$ 3,02	75,73 $\pm$ 2,42
	G6	78,07 $\pm$ 3,32	75,43 $\pm$ 4,44
	G9	77,54 $\pm$ 2,63	75,87 $\pm$ 4,30
	G12	79,00 $\pm$ 3,18	76,15 $\pm$ 1,16
	Média	77,60 $\pm$ 1,35B	75,80 $\pm$ 0,30B
Linearidade (%)	G3	43,44 $\pm$ 3,03	41,60 $\pm$ 1,14
	G6	45,08 $\pm$ 2,46	42,24 $\pm$ 4,03
	G9	43,65 $\pm$ 2,00	42,08 $\pm$ 3,66
	G12	43,41 $\pm$ 2,50	42,77 $\pm$ 1,78
	Média	43,90 $\pm$ 0,80B	42,17 $\pm$ 0,48B
Deslocamento lateral da cabeça ( $\mu\text{m}$ )	G3	3,41 $\pm$ 0,27	3,59 $\pm$ 0,31
	G6	3,38 $\pm$ 0,52	3,52 $\pm$ 0,39
	G9	3,30 $\pm$ 0,34	3,65 $\pm$ 0,49
	G12	3,43 $\pm$ 0,19	3,76 $\pm$ 0,44
	Média	3,38 $\pm$ 0,06B	3,63 $\pm$ 0,10A
Frequência de batimento flagelar cruzado (Hz)	G3	46,59 $\pm$ 7,68	41,63 $\pm$ 2,65
	G6	43,46 $\pm$ 5,08	41,64 $\pm$ 3,54
	G9	40,30 $\pm$ 3,64	41,50 $\pm$ 2,92
	G12	39,97 $\pm$ 7,00	41,70 $\pm$ 2,50
	Média	42,58 $\pm$ 3,10B	41,62 $\pm$ 0,08B

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

Parâmetro	Momento <sup>2</sup>		Média
	M60	M90	
Velocidade média do percurso ( $\mu\text{m/s}$ )	170,59 $\pm$ 15,79	168,16 $\pm$ 14,80	150,17 $\pm$ 22,29
	176,58 $\pm$ 18,18	171,73 $\pm$ 23,14	149,86 $\pm$ 28,13
	180,96 $\pm$ 13,31	161,80 $\pm$ 16,84	150,56 $\pm$ 26,02
	176,16 $\pm$ 14,58	167,07 $\pm$ 13,21	151,41 $\pm$ 26,12
	176,07 $\pm$ 4,25A	167,19 $\pm$ 4,11A	
Retilinearidade (%)	79,44 $\pm$ 2,74	80,20 $\pm$ 1,85	77,79 $\pm$ 2,37
	79,94 $\pm$ 2,51	83,02 $\pm$ 3,98	79,12 $\pm$ 3,19
	80,84 $\pm$ 3,14	80,98 $\pm$ 2,60	78,81 $\pm$ 2,52
	81,87 $\pm$ 4,10	82,14 $\pm$ 1,81	79,79 $\pm$ 2,81
	80,52 $\pm$ 1,07A	81,59 $\pm$ 1,25A	
Linearidade (%)	45,52 $\pm$ 3,15	45,79 $\pm$ 0,83	44,09 $\pm$ 1,96
	47,66 $\pm$ 2,61	48,98 $\pm$ 4,29	45,99 $\pm$ 2,98
	47,36 $\pm$ 2,33	46,65 $\pm$ 3,39	44,94 $\pm$ 2,49
	48,37 $\pm$ 3,21	48,30 $\pm$ 2,03	45,71 $\pm$ 3,04
	47,23 $\pm$ 1,21A	47,43 $\pm$ 1,47A	
Deslocamento lateral da cabeça ( $\mu\text{m}$ )	3,96 $\pm$ 0,39	3,89 $\pm$ 0,19	3,71 $\pm$ 0,26
	3,71 $\pm$ 0,23	3,83 $\pm$ 0,23	3,61 $\pm$ 0,20
	3,84 $\pm$ 0,26	3,85 $\pm$ 0,34	3,66 $\pm$ 0,26
	3,73 $\pm$ 0,21	3,74 $\pm$ 0,22	3,67 $\pm$ 0,16
	3,81 $\pm$ 0,12A	3,83 $\pm$ 0,06A	
Frequência de batimento flagelar cruzado (Hz)	51,03 $\pm$ 5,47	50,30 $\pm$ 4,58	47,39 $\pm$ 4,30
	51,98 $\pm$ 3,55	52,24 $\pm$ 3,90	47,33 $\pm$ 5,57
	53,10 $\pm$ 3,72	47,09 $\pm$ 5,59	45,50 $\pm$ 5,87
	53,92 $\pm$ 3,93	50,44 $\pm$ 3,56	46,51 $\pm$ 6,74
	52,51 $\pm$ 1,27A	50,02 $\pm$ 2,14A	

<sup>1</sup> G3 – 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de AGP-Ca<sup>+</sup> e, G6, G9 e G12 com adição de AGP-Ca<sup>+</sup> e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente.

<sup>2</sup> M0, M30, M60 e M90 = dia zero, 30, 60 e 90 dias da administração da dieta, respectivamente. SPTZ - espermatozoides.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5%, maiúscula na linha e minúscula na coluna.

Apesar dos relatos dos benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados aumentando a motilidade dos espermatozoides (FARAJI et al., 2012), o presente trabalho não apresentou vantagens da adição destes elementos na dieta para melhoria da cinética espermática no sêmen de carneiros. Uma das hipóteses é de que os

ácidos graxos oriundos da gordura protegida da dieta talvez não tenham sido transferidos para o sêmen e conseqüentemente para os espermatozoides.

Analisando-se as médias, independentemente do grupo, observou-se que os parâmetros de cinética espermática apresentaram mudanças ( $P < 0,05$ ) ao longo do período experimental. Os parâmetros MT e ALH aumentaram significativamente ( $P < 0,05$ ) a partir do M30. Quanto aos demais parâmetros MP, VCL, VSL, VAP, STR e BCF, foram observados incrementos significativos ( $P < 0,05$ ) a partir do M60.

A maturação dos espermatozoides no epidídimo dura em torno de 13 a 15 dias, ocorrendo mudanças substanciais nas suas funções, composição e organização da sua membrana com conseqüente aquisição da motilidade e habilidade de fertilização do ovócito (KNOBIL; & NEILL, 2006) que podem ter sido responsáveis pela melhoria precocemente observada na função cinética dos espermatozoides. Mudanças aos 30 dias, entretanto não podem ser totalmente associadas ao período que compreende o tempo de espermatogênese somado ao trânsito do espermatozoide no epidídimo em ovinos, uma vez que nesta espécie, este intervalo é de aproximadamente 60 a 70 dias (CUNNINGHAM; & KLEIN, 2008). Em contrapartida, alguns efeitos benéficos das dietas ao longo do período experimental sobre a cinética espermática (MP, VCL, VSL, VAP, LIN, STR e BCF) coincidiram com o ciclo completo da produção e liberação dos espermatozoides em ovinos.

## Conclusão

A administração de dietas energéticas baseadas na suplementação com ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $AGP \cdot Ca^+$ ) não tem influência sobre a cinética espermática do sêmen de carneiros.

## Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de mestrado e de PIBIC.

## Referências

CERVONI, J. E. **Gordura protegida na alimentação de ruminantes**. 2006.

Disponível em: < <http://www.limousin.com.br/pages/artigos/vendo.asp?ID=107> >. Acesso em: 11 de fevereiro de 2011.

CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G. Tratado de fisiologia veterinária. In: FISILOGIA reprodutiva do macho. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2008. p. 523.

CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G. Fisiologia reprodutiva do macho. In: CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Campos LV; Elsevier, 2008. p. 523.

DE GRAAF, S. P., PEAKE, K., MAXWELL, W. M. C., O'BRIEN, J. K.; EVANS, G. Influence of supplementing diet with oleic and linoleic acid on the freezing success and sex-sorting parameters of ram semen. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 110, p. 166-173, 2007.

FARAJI, Z.; ZAMIRI, M. J.; ROWGHANI, E.; AKHLAGHI, A.; JAFARZADEH, M. R.; BAYAT, A. R.; GHOLAMI, M. Effect of feeding olive-pulp silage on the seminal characteristics and fatty acid profile of the sperm plasma membrane in Iranian fat-tailed sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 105, p. 216-221, 2012.

FERREIRA, D. F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 2000.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G.; BIRGEL JÚNIOR, E. H. Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia. São Paulo: Varela, 2005.

NEILL, J. D.; PLANT, T. M.; PFAFF, D. W.; CHALLIS, J. R. G.; KRETSER, D. M. de; RICHADS, J. S. WASARMAN, P. M. (Ed.). **Physiology of Reproduction**. 3. Ed. New York: Elsevier, 2006. v. 1, p. 3-54.



# Efeito da Adição de Ácidos Graxos Poli-Insaturados na Dieta Sobre Aspectos Quanti-qualitativos do Sêmen de Carneiros

**José Eduardo Matos<sup>1</sup>; Tarsizio da Silva Santos<sup>2</sup>; Rebeca Santos da Silva<sup>3</sup>; Maiana Silva Chaves<sup>4</sup>; Ana Cláudia França de Freitas<sup>5</sup>; Pábola Santos Nascimento<sup>6</sup>; Allan Andrade Rezende<sup>7</sup>; Paulo César Falanghe Carneiro<sup>8</sup>; Alexandre Nizio Maria<sup>9</sup>; Anselmo Domingos Ferreira Santos<sup>10</sup>; Antônio Coutinho Silva Júnior<sup>11</sup>; Hymerson Costa Azevedo<sup>12</sup>**

## Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dietas com diferentes concentrações de ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio (AGP·Ca<sup>+</sup>) sobre os aspectos quantitativos e qualitativos do sêmen de carneiros. Foram utilizados 24 carneiros da raça Santa Inês (SI) distribuídos em quatro grupos experimentais que se diferiram na quantidade consumida diariamente de AGP·Ca<sup>+</sup> a partir da ingestão de uma dieta base como segue: G3 - grupo controle

<sup>1</sup> Zootécnico, mestre em Zootecnia, professor substituto da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>2</sup> Biólogo, mestrando de Recursos Naturais do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Médica-veterinária, mestranda de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>4</sup> Médica-veterinária, mestranda de Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

<sup>5</sup> Médica-veterinária, mestranda de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>6</sup> Médica-veterinária, mestranda de Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

<sup>7</sup> Médico-veterinário, mestrando de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

<sup>8</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Zootecnia, professor da Universidade Federal de Sergipe, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>9</sup> Zootécnico, doutor em Produção Animal, professor da Universidade Federal de Sergipe, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>10</sup> Médico-veterinário, doutor em Zootecnia, professor da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>11</sup> Graduando de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Sergipe, bolsista do PIBIC da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>12</sup> Médico-veterinário, doutor em Reprodução Animal, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

com 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de AGP·Ca<sup>+</sup> e, G6, G9 e G12 com adição de AGP·Ca<sup>+</sup> e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente. Um ejaculado de cada carneiro foi colhido totalizando 24 amostras de sêmen em cada momento do período experimental como segue: dia 0 (M0), aos 30 dias (M30), aos 60 dias (M60) e aos 90 dias (M90) do início da administração das dietas experimentais. Cada ejaculado foi avaliado quanto ao volume e concentração e viabilidade espermáticas obtendo-se também o número total de espermatozoides ejaculados. A análise dos dados indicou diferença ( $P < 0,05$ ) tanto para os grupos, quanto para os momentos, sendo que não houve interação entre as variáveis independentes. Os grupos não diferiram ( $P > 0,05$ ) quanto aos parâmetros volume e porcentagem de espermatozoides viáveis, porém diferiram entre si ( $P < 0,05$ ) quanto à concentração espermática e o número total de espermatozoides sem, entretanto, permitir uma interpretação lógica. O aumento do volume associado à redução da concentração espermática do sêmen que foram observados foi reflexo do aumento na produção de plasma seminal provavelmente provocada pela ingestão das dietas o que pode ter levado a melhoria da qualidade espermática ao longo do período experimental. Conclui-se que a administração de dietas suplementadas com AGP·Ca<sup>+</sup> não tem influência sobre os aspectos quanti-qualitativos do sêmen de carneiros.

**Palavras-chave:** gordura protegida, gordura inerte, lipídios, espermatozoides, sêmen, Santa Inês.

## Introdução

A qualidade do sêmen e consequentemente dos espermatozoides é afetada pela nutrição e entre as várias biomoléculas que exercem efeito sobre a fisiologia dos gametas masculinos estão os lipídios (KELSO et al., 1997). Elevadas quantidades de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) dos espermatozoides sugerem que estes elementos podem ser determinantes nas taxas de fertilidade do sêmen (RODENAS et al., 2005).

Fontes de lipídios poli-insaturados têm sido usadas em dietas de reprodutores para melhorar os aspectos quantitativos e qualitativos do sêmen fresco (DOLATPANAH et al., 2008). A dieta dos ruminantes, entretanto, não deve apresentar grandes concentrações de ácidos graxos poli-insaturados devido a seu efeito tóxico sobre os microrganismos, e consequentemente, diminuição da digestibilidade das fibras no rúmen (GRUNERT et al., 2005).

Experimentos que envolvam a suplementação de óleos insaturados em dietas para ruminantes são beneficiados pela adição de um protetor que reduza a saturação dos ácidos graxos no rúmen, resultando em maior absorção no intestino (DE GRAAF et al., 2007). A gordura protegida no rúmen consiste basicamente em uma fonte de ácidos graxos insaturados, normalmente ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico protegidos, obtendo-se melhor aproveitamento de suas características particulares (CERVONI, 2011), por isso também é conhecida também como ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio (AGP-Ca<sup>+</sup>).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dietas com diferentes concentrações de AGP-Ca<sup>+</sup> sobre os aspectos quantitativos e qualitativos do sêmen de carneiros.

## Material e Métodos

Foram utilizados 24 carneiros da raça Santa Inês (SI) contemporâneos, com idade entre 21 e 22 meses e peso vivo médio de 50 Kg, selecionados por meio de exames clínico-andrológicos. Os carneiros passaram por um período de adaptação de sete dias a uma dieta base composta por feno de capim tifton-85 (*Cynodon dactylon*), milho triturado, farelo de soja, cloreto de sódio e fosfato bicálcico, formulada para atender as exigências de ganho mínimo de 100g/dia. Após o período de adaptação, os animais foram distribuídos aleatória e equitativamente em quatro grupos: G3, G6, G9 e G12. Os grupos experimentais diferiram-se na quantidade consumida diariamente de AGP-Ca<sup>+</sup> a partir da ingestão da dieta base formulada sem e com adição de diferentes níveis de Megalac-E® (Church & Dwight Co., Nova Jersey, EUA): G3 - grupo controle com 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de AGP-Ca<sup>+</sup> e, G6, G9 e G12 com adição de AGP-Ca<sup>+</sup> e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente. Durante todo o período experimental os alimentos foram fornecidos na forma de dieta total, com consumo ad libitum de água e das dietas.

Um ejaculado de cada carneiro foi colhido por meio de vagina artificial, totalizando 24 amostras de sêmen em cada momento do período experimental como segue: dia 0 (M0), aos 30 dias (M30), aos 60 dias (M60) e aos 90 dias (M90) do início da administração das dietas experimentais, obtendo-se ao final de todas as coletas um total de 96 amostras.

Cada ejaculado foi avaliado quanto ao volume e concentração (Neubauer) e viabilidade (eosina-nigrosina) espermáticas. Multiplicando-se o volume pela concentração, obteve-se o número total de espermatozoides ejaculados.

Os dados foram analisados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade da distribuição dos resíduos. Os dados normais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias ao teste Scott-Knott, ao nível de significância de 5% de probabilidade. As médias que apresentaram diferença foram submetidas à análise de regressão. As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2000).

## Resultados e Discussão

A análise dos dados indicou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) tanto para os grupos, quanto para os momentos, sendo que não houve interação entre as variáveis independentes. Os grupos não diferiram significativamente ( $P > 0,05$ ) quanto aos parâmetros volume e porcentagem de espermatozoides viáveis, porém diferiram entre si ( $P < 0,05$ ) quanto à concentração espermática e o número total de espermatozoides sem, entretanto permitir uma interpretação lógica (Tabela 1).

**Tabela 1.** Efeito dos diferentes níveis de ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $\text{AGP}^-\text{Ca}^+$ ) na dieta de carneiros sobre as características seminais.

Parâmetro	Grupo <sup>1</sup>	Momento <sup>2</sup>	
		M0	M30
Volume do sêmen (mL)	G3	1,1 ± 0,6	1,3 ± 0,4
	G6	1,1 ± 0,5	1,0 ± 0,3
	G9	1,3 ± 0,4	1,1 ± 0,3
	G12	1,2 ± 0,5	1,4 ± 0,5
	Média	1,2 ± 0,5B	1,2 ± 0,4B
Concentração espermática ( $\times 10^9 \text{SPTZ/mL}$ )	G3	4,5 ± 0,8	3,6 ± 0,6
	G6	4,8 ± 0,7	3,9 ± 0,9
	G9	4,1 ± 0,6	3,4 ± 0,5
	G12	5,1 ± 0,7	3,5 ± 0,5
	Média	4,6 ± 0,6A	3,6 ± 0,6B
Número total de espermatozóides ejaculados ( $\times 10^9 \text{SPTZ}$ )	G3	6,3 ± 3,4	4,7 ± 1,9
	G6	5,2 ± 3,2	3,8 ± 1,2
	G9	5,2 ± 1,8	3,7 ± 0,7
	G12	6,3 ± 2,7	5,0 ± 2,3
	Média	5,8 ± 2,7	4,3 ± 1,6
Espermatozóides viáveis (%)	G3	68,7 ± 8,2	69,7 ± 8,1
	G6	75,6 ± 8,2	68,8 ± 15,1
	G9	60,8 ± 20,2	64,6 ± 5,3
	G12	66,3 ± 15,8	73,2 ± 8,4
	Média	67,8 ± 14,2	69,1 ± 9,7

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

Parâmetro	Momento <sup>2</sup>		Média
	M60	M90	
Volume do sêmen (mL)	1,4 ± 0,4	1,5 ± 1,0	1,4 ± 0,6
	1,3 ± 0,3	1,8 ± 0,4	1,3 ± 0,5
	1,1 ± 0,3	1,3 ± 0,7	1,2 ± 0,4
	1,5 ± 0,4	1,7 ± 0,6	1,4 ± 0,5
	1,3 ± 0,4AB	1,6 ± 0,7A	
Concentração espermática (x10 <sup>8</sup> SPTZ/mL)	3,9 ± 0,6	4,1 ± 0,8	4,0 ± 0,7ab
	4,0 ± 0,7	3,8 ± 0,8	4,1 ± 0,8a
	3,0 ± 1,1	3,8 ± 0,8	3,6 ± 0,8b
	4,6 ± 0,5	3,7 ± 0,7	4,2 ± 0,8a
	3,9 ± 0,9B	3,8 ± 0,7B	
Número total de espermatozóides ejaculados (x10 <sup>9</sup> SPTZ)	5,5 ± 2,6	6,3 ± 4,9	5,7 ± 3,2ab
	5,3 ± 1,8	6,9 ± 1,9	5,3 ± 2,3ab
	3,3 ± 1,5	4,6 ± 1,9	4,2 ± 1,6b
	7,0 ± 1,3	6,4 ± 3,0	6,2 ± 2,4a
	5,3 ± 2,2	6,1 ± 3,0	
Espermatozóides viáveis (%)	67,9 ± 11,2	70,4 ± 11,4	69,2 ± 9,2
	74,9 ± 12,6	65,1 ± 21,1	71,1 ± 14,7
	58,3 ± 19,3	69,5 ± 13,5	63,3 ± 15,3
	72,5 ± 9,7	72,8 ± 10,0	71,2 ± 11,0
	68,4 ± 14,3	69,4 ± 1,0	

<sup>1</sup> G3 - 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de AGP Ca<sup>+</sup> e, G6, G9 e G12 com adição de AGP Ca<sup>+</sup> e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente.

<sup>2</sup> M0, M30, M60 e M90 = dia zero, 30, 60 e 90 dias da administração da dieta, respectivamente. SPTZ - espermatozoides.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5%, maiúscula na linha e minúscula na coluna.

Apesar dos relatos dos benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados aumentando a viabilidade, normalidade do acrossomo e motilidade e reduzindo as anormalidades dos espermatozoides (FARAJI et al., 2012), o presente trabalho não apresentou vantagens da adição destes elementos na dieta para melhoria da qualidade do sêmen de carneiros. Os ácidos graxos oriundos do gordura protegida da dieta talvez não tenham sido transferidos para o sêmen e consequentemente para os espermatozoides.

Analisando-se as médias, independentemente do grupo, observou-se que alguns parâmetros apresentaram mudanças ao longo do período experimental como o volume do sêmen e a concentração espermática. O aumento do volume associado à redução da concentração espermática do sêmen ao longo do período experimental representou um aumento na produção de plasma seminal provavelmente provocada pela ingestão das dietas. O aumento na quantidade de plasma pode beneficiar a qualidade do sêmen (LYMBEROPOULOS et al., 2010) e a capacidade fecundante dos espermatozoides (NASRIN et al., 2011). Assim, a melhoria da qualidade espermática observada ao longo do período experimental do presente trabalho pode ter sido em decorrência do aumento da quantidade de plasma no sêmen.

## Conclusão

A administração de dietas energéticas baseadas na suplementação com ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $\text{AGP}\cdot\text{Ca}^+$ ) não tem influência sobre os aspectos quanti-qualitativos do sêmen de carneiros.

## Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de mestrado e de PIBIC.

## Referências

CERVONI, J. E. **Gordura protegida na alimentação de ruminantes**. 2006. Disponível em: <<http://www.limousin.com.br/pages/artigos/vendo.asp?ID=107>>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2011.

DE GRAAF, S. P., PEAKE, K., MAXWELL, W. M. C., O'BRIEN, J. K.; EVANS, G. Influence of supplementing diet with oleic and linoleic acid on the freezing success and sex-sorting parameters of ram semen. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 110, p. 166-173, 2007.

DOLATPANAH, M. B.; TOWHIDI, A.; FARSHAD, A.; RASHIDI, A.; REZAYAZDI, A. Effects of dietary fish oil on semen quality of goats. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**. Seoul, v. 21, n. 1, p. 29-34, 2008.

FARAJI, Z.; ZAMIRI, M. J.; ROWGHANI, E.; AKHLAGHI, A.; JAFARZADEH, M. R.; BAYAT, A. R.; GHOLAMI, M. Effect of feeding olive-pulp silage on the seminal characteristics and fatty acid profile of the sperm plasma membrane in Iranian fat-tailed sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 105, p. 216-221, 2012.

FERREIRA, D. F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 2000. GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G.; BIRGEL JÚNIOR, E. H. Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia. São Paulo: Varela, 2005.

KELSO, K. A. et al. Effect of dietary supplementation with  $\alpha$  Linolenic acid on the phospholipids fatty acid composition and quality of spermatozoa in cockerel from 24 to 72 week of age. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 110, p. 53-59, 1997.

LYMBEROPOULOS, A. G.; TSAKMAKIDIS, I. A.; KHALIFA, T. A. A. Effect of ram age on structural and functional competence of frozen:thawed spermatozoa in dairy sheep. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 45, p. 572-578, 2010.

NASRIN, S.; STELLETTA, C. Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. **Journal of Andrology**, Lawrence, v. 33, p. 536-551, 2012.

RODENAS, C. E. O.; MURGAS, L. D. S.; MARCIEL, M. P.; FERRAZ, J. M.; RIBEIRO, M. C.; BERTECHINI, A. G.; FREITAS, R. T. F.; FIALHO, E. T. Características seminais de galos alimentados com rações suplementadas com diferentes óleos e níveis de vitamina E. **Ciência Agrotecnica**, Lavras, v. 29, p. 160-167, 2005.



# Erosão Hídrica Laminar nos Sistemas de Cultivo de Milho no Agreste Sergipano

*Juliana Moura Lima da Silva<sup>1</sup>; Inácio de Barros<sup>2</sup>; Edson Patto Pacheco<sup>3</sup>; Thomas Souza Cruz<sup>4</sup>; Erick do Nascimento Dantas<sup>5</sup>; Gilmário Dantas da Silva<sup>6</sup>*

## Resumo

A região Agreste do Estado de Sergipe tem experimentado uma forte expansão da cultura do milho nos últimos anos, sendo esta acompanhada por um substancial aumento no uso de máquinas e intensidade de preparo do solo que, associada a práticas inadequadas de manejo, pode aumentar a erosão hídrica. A fim de se antecipar aos efeitos nefastos da erosão, e propor soluções para a conservação dos solos nas regiões de expansão da cultura, foi instalado um experimento na região do Agreste, que visa avaliar os impactos de diferentes sistemas de cultivo na produtividade do milho e nas perdas do solo e água. Os resultados dos dois primeiros anos mostraram que a semeadura direta proporciona uma maior proteção contra as perdas de solo, mas uma maior perda de água em relação ao cultivo mínimo e o plantio convencional. As produtividades não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos cujas médias foram superiores a 9 e 6 t.ha<sup>-1</sup> no primeiro e segundo ano, respectivamente. Tendo em vista os resultados, pode-se especular que uma maior proteção contra as perdas de solo e água depende da combinação entre a semeadura direta e outros métodos conservacionistas como o plantio em nível e a construção de terraços.

**Palavras-chave:** Erosão, Plantio direto, Cultivo mínimo, Agreste, Milho, Sistema de Cultivo.

<sup>1</sup> Graduanda de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, julianamoura.17@hotmail.com.

<sup>2</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Agromonia, pesquisador A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, inacio.barros@embrapa.br.

<sup>3</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência do Solo, pesquisador A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, edson.patto@embrapa.br.

<sup>4</sup> Graduando de Engenharia Civil da Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, souza\_thomas@hotmail.com.

<sup>5</sup> Graduando de Agronomia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, erickdantasagro@gmail.com.

<sup>6</sup> Graduando de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, gilmariofloresta@gmail.com.

## Introdução

Entre 2003 e 2010, a produção de milho saltou de 86,6 para 750,7 mil toneladas no Estado de Sergipe. Este incremento na produção se deu em grande parte por ganhos de produtividade, que passaram de 1.100 kg ha<sup>-1</sup> em 2003, para 4.123 kg ha<sup>-1</sup> em 2010, comparável a média nacional de 4.300 kg ha<sup>-1</sup>, mas, também, por um forte aumento na área colhida que passou de 78,5 para 182,1 mil hectares, transformando o milho na principal cultura temporária de Sergipe em valores econômicos (IBGE, 2011). Em conjunto com o forte aumento na área plantada tem ocorrido uma importante mudança no perfil tecnológico da produção, que tem sido direcionado para o intensivo uso de mecanização e insumos químicos.

O aumento no uso da mecanização e na intensidade de preparo do solo, geralmente acarreta diminuição da cobertura do solo (principal fator para sua conservação), da rugosidade e da porosidade total da camada preparada, aumentando dessa forma a erosão hídrica (BURWELL et al., 1963; COGO, 1981).

A fim de se minimizar ou mesmo evitar os impactos ocasionados pela erosão hídrica, estudos que monitorem e quantifiquem esses impactos, tanto nos sistemas de cultivo usados atualmente, quanto em sistemas alternativos que buscam a sustentabilidade da produção. O monitoramento e quantificação das perdas de solo e água por erosão hídrica pluvial, e sua relação com o sistema de cultivo adotado, constituem fatos importantes no contexto da degradação dos solos da região, Agreste. Estes estudos visam estabelecer sistemas de produção sustentáveis, com o mínimo de danos ao meio-ambiente e com a máxima lucratividade para o produtor rural.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes sistemas de cultivo - Plantio convencional, Cultivo mínimo e semeadura direta - nas perdas de solo e água, e desses, na produção de grãos milhão nas condições edafoclimáticas do Agreste sergipano.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido em Cambissolo com textura argilosa, eutrófico e relevo ondulado na Estação Experimental da Embrapa em Frei Paulo, SE, cuja precipitação pluvial média anual é de 700 mm e as coordenadas geográficas são

10° 55' latitude S e 37° 53' longitude W e altitude média de 272 m. A declividade média da área experimental é de 5.42%.

No ano de 2011, o plantio do milho foi realizado no dia 18/05 sendo utilizado o híbrido simples de milho (DKB177RR2). Já em 2012, o plantio foi realizado em 28/06 sendo utilizado o híbrido 2B587HX. O espaçamento entre linhas foi de 0,60 m, e 0,25 m entre as plantas na linha, com apenas uma planta em cada cova (aproximadamente 70.000 plantas/ha). O desbaste das plantas excedentes foi realizado duas semanas após o plantio. Cada parcela foi composta por 6 linhas paralelas de 22 m de comprimento cada.

A adubação de plantio foi de 200 kg ha<sup>-1</sup> de MAP (10-50-00; N, P2O5, K2O) e a adubação de cobertura, foi aplicada quando as plantas apresentavam em média 4 folhas, sendo aplicada a dosagem de 180 kg de N ha<sup>-1</sup> na forma de Sulfato de Amônio (22% de N) em 2011 e de ureia (45% de N) em 2012. A adubação de cobertura foi feita a lanço e não houve recobrimento do adubo com o solo, uma vez que este se encontrava suficientemente úmido em ambos os anos.

Para o preparo do solo, foi aplicado o herbicida Round-up® na dosagem de 3 litros do produto por hectare aproximadamente 2 semanas antes do preparo do solo, que ocorreram nos dias 06/05 e 20/06 para os anos de 2011 e 2012, respectivamente. Preparo esse que seguiu os tratamentos descritos abaixo.

O experimento constituiu-se de 4 tratamentos onde foram testados 03 tipos de sistemas de cultivo: i) Plantio convencional (PC), constituído de 1 passagem com grade pesada e 1 passagem com grade niveladora; ii) Cultivo mínimo (CM), constituído de 1 passagem com escarificador (subsolador regulado para uma profundidade de 20 cm) e uma passagem com a grade niveladora; iii) Semeadura direta (SD) e comparados com; iv) Tratamento sem cobertura vegetal, parcela padrão (PP), preparada da mesma forma que o tratamento PC porém com o solo mantido sem cobertura.

No ano de 2011, o controle da broca do cartucho ocorreu uma única vez, no mês de junho, sendo que o inseticida DECIS® foi usado na dosagem de 20 ml por pulverizador costal (20 litro de água), e o produto aplicado apenas nos focos de ataque da praga. Já em 2012, não houve necessidade de controle da praga uma vez que o híbrido utilizado apresentava resistência via transgenia.

A medição das perdas de água e solo por erosão hídrica pluvial foi feita em parcelas de escoamento natural com 22,0 m de comprimento por 3,5 m de largura (77,0 m<sup>2</sup>), com a maior dimensão disposta no sentido da pendente do terreno, conforme proposto por Wischmeier e Smith (1978). Cada parcela foi delimitada nas laterais e extremidade superior com chapas galvanizadas de 0,2 m de largura, cravadas 0,10 m no solo. Na extremidade inferior foi instalada uma calha para recolhimento da enxurrada até o tanque de coleta do material de erosão.

Após cada evento pluvioso (mínimo de 6 horas de intervalo), eram coletadas as amostras para determinação da concentração de sedimentos. As atividades que incluíram o monitoramento das parcelas e a coleta das amostras em campo para posterior análise em laboratório (perdas de solo e água) foram feitas com base na metodologia descrita por Cogo (1978a, 1978b) e Embrapa (1997).

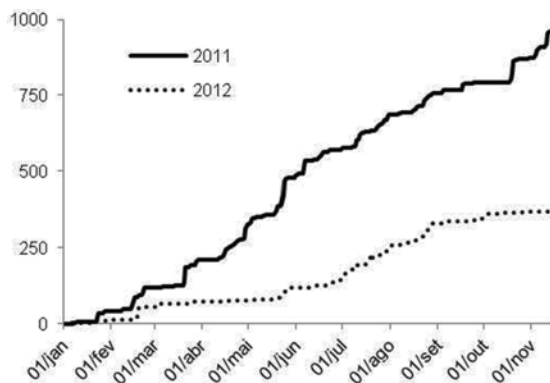
Devido à chuva ocorrida em 06/06/2011, de um total de 44 mm, houve transbordo dos coletores das parcelas 10 (PC), 11 (PP) e 12 (CM), apesar de terem a capacidade de 1000 litros. Portanto, os dados de perda de solo e água de todo o bloco 3 (parcelas 9, 10, 11 e 12) foram desconsiderados nas análises do primeiro ano (2011).

As colheitas foram realizadas nos dias 28/10 e 26/11 nos anos de 2011 e 2012, respectivamente. Foram feitas medidas da produtividade de grãos, padronizadas para o teor de umidade de 13%.

## Resultados e Discussão

### Precipitação:

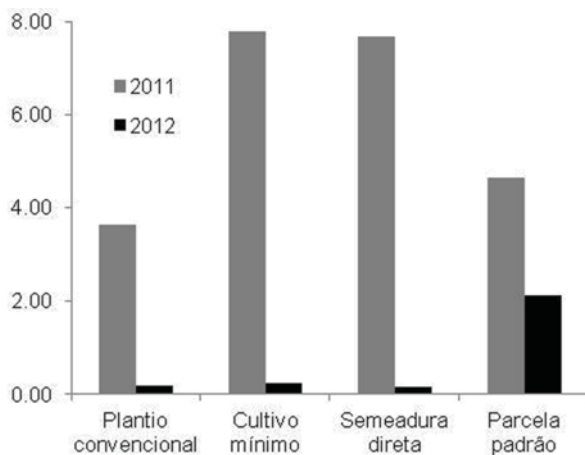
Durante os ciclos culturais de 2011 e 2012, ocorreram precipitações totais de 512 e 231 mm, respectivamente, conforme a Figura 1. A região do Agreste e Sertão sofreu, no ano de 2012, uma das piores secas dos últimos 50 anos.



**Figura 1.** Precipitação acumulada no sitio experimental em Frei Paulo (SE) em mm.

### Perdas de água e solo:

As perdas totais de água são apresentadas na Fig. 2. Pode-se observar que, em 2011, os tratamentos com cultivo mínimo e semeadura direta apresentaram as maiores perdas de água por erosão laminar, enquanto o plantio convencional apresentou as menores perdas, que foram, inclusive, inferiores às observadas na parcela padrão. Devido a seca pronunciada em 2012, as perdas de água foram bastante reduzidas, representando de 5 a 40% em relação às perdas observadas em 2011.



**Figura 2.** Perdas de água em diferentes sistemas de cultivo e na parcela padrão em Frei Paulo (SE) em mm.

Com relação às perdas de solo, estes são apresentados na Tabela 1. Em 2011, o sistema de cultivo que mais favoreceu a conservação do solo foi a semeadura direta (88% inferior à parcela padrão), enquanto que o plantio convencional apresentou perdas de solo 31% superiores à da semeadura direta. Em 2012 as perdas de solo foram insignificantes devido a seca e à predominância de chuvas de baixa intensidade.

**Tabela 1.** Perdas de solo ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) em diferentes sistemas de cultivo de milho em Frei Paulo (SE).

Sistema de Cultivo	Ano	
	2011	2012
Convencional	327,7	4,7
Mínimo	271,8	6,6
Direto	248,9	0,8
Parcela Padrão	2092,6	281,9

### Produtividade:

Apesar de não apresentar diferenças significativas entre os sistemas de cultivo testados (Tabela 2), a produtividade média do experimento, superior a  $9 \text{ t ha}^{-1}$  em 2011 e a  $6 \text{ t ha}^{-1}$  em 2012 (Tabela 3), pode ser considerada elevada para as condições pedoclimáticas do sítio experimental e o regime pluviométrico no período. A diferença significativa de produtividade entre 2011 e 2012, reflete os efeitos da baixa disponibilidade de água no segundo ano.

**Tabela 2.** Análise de variância da produtividade de grãos de milho em diferentes sistemas de cultivo em Frei Paulo (SE) em 2011 e 2012.

Fonte de Variação	GL	QM	F	Pr > F
Bloco	2	259394	0,887	0,442
Ano	1	44803741	153,278	< 0,001
Tratamento	2	363299	1,243	0,330
Ano x Trat.	2	14887	0,051	0,951
Resíduo	10	2923036		
Total	17	49001939		

**Tabela 3.** Produtividade média de milho (kg ha<sup>-1</sup>) em diferentes sistemas de cultivo em Frei Paulo (SE).

Fonte de Variação	GL	QM	F	Pr > F
Bloco	2	259394	0,887	0,442
Ano	1	44803741	153,278	< 0,001
Tratamento	2	363299	1,243	0,330
Ano x Trat.	2	14887	0,051	0,951
Resíduo	10	2923036		
Total	17	49001939		

## Conclusões

O sistema de semeadura direta proporcionou uma maior proteção contra as perdas de solo em relação ao cultivo mínimo e o plantio convencional;

Houve uma maior perda de água no sistema de cultivo mínimo e semeadura direta em relação ao sistema de plantio convencional;

A produtividade média não diferenciou estatisticamente entre os sistemas de cultivo testados. Diferenças de produtividade ainda poderão ser observadas no futuro.

## Agradecimentos

Os agradecimentos são direcionados à Prof. Dra. Jeane Cruz Portela da UFERSA pela instalação do dispositivo experimental no ano de 2010, assim como à Fundação de Apoio à Pesquisa e Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro dado ao projeto.

## Referências

BURWELL, R. E.; ALLMARAS, R. R.; AMEMIYA, M. A. Field measurement of total porosity and surface microrelief of soils. **Proceedings Soil Science Societ America**, v. 27, p. 697-700, 1963.

COGO, N. P. Uma contribuição à metodologia de estudo das perdas de erosão em condições de chuva natural. I. Sugestões gerais, medição dos volumes, amostragem e qualificação de solo e água da enxurrada: 1º aproximação. In: ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA SOBRE CONSERVAÇÃO DO SOLO, 2., 1978, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: EMBRAPA –CNPT, p. 75- 98, 1978a.

COGO, N. P. Uma contribuição à metodologia de estudo das perdas de erosão em condições de chuva natural. I.I Alguns conceitos básicos e modelo de uma ficha para registro das características da chuva e perdas de solo e água: 2º aproximação. In: ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA SOBRE CONSERVAÇÃO DO SOLO, 2., 1978. Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: EMBRAPA –CNPT, p. 99-105- 98, 1978b.

COGO, N. P. Effect of residue cover, tillage induced roughness, and slope length on erosion and related parameters. 346 f. 1981. Tese (Doutorado) - Purdue University, West Lafayette, 1981.

CLAESSEN, M. E. C. (Org.). Manual de métodos de análise de solo. 2. ed. rev. Atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 2012 p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 1).

IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 2011. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp?e=v&p=LA&z=t&o=3>. Acesso em: 25/04/2011.

WISCHMEIER, W. H.; SMITH, D. D. **Predicting rainfall erosion losses: a guide to conservation planning**. Washington: USDA, 1978. 58 p. (Agricultural Handbook, 537).



# Análise da Variabilidade Genética dos Isolados de *Thielaviopsis paradoxa* e Detecção no Solo por PCR em Tempo Real

André Luiz Pinto Santos<sup>1</sup>; Leandro Eugenio Cardamone Diniz<sup>2</sup>

## Resumo

A resinose é uma doença conhecida nas áreas produtoras de palmeiras no mundo, incluindo o coqueiro, sendo causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn) Höhl, patogênico de plantas, que vem causando prejuízos na produção de importantes culturas. Já foram relatadas doenças relacionadas com a infecção por *T. paradoxa* em diversas espécies de plantas tropicais como abacaxi (*Ananas comosus*), cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.), bananeira (*Musa* sp.), coqueiro (*Cocos nucifera* L.) e outras palmeiras da família Arecaceae. Apesar da relevância desta doença, praticamente não foram encontrados na literatura estudos sobre a variabilidade genética de *T. paradoxa* com a utilização de marcadores moleculares. Por isso, o objetivo deste trabalho foi de analisar através do uso de marcadores do tipo RAPD, a diversidade genotípica dos isolados coletados em diferentes hospedeiros em algumas regiões do estado de Sergipe comparando aos isolados coletados na Bahia e Alagoas. As atividades foram desenvolvidas no Laboratório de Fitopatologia e no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros (CPATC). Para esta análise foram utilizados 15 isolados, coletados nos Estados de Sergipe, Bahia e Alagoas, pertencentes à coleção de *T. paradoxa* mantidas pela Embrapa CPATC. A análise com 15 primers RAPD geraram um total de 111 fragmentos amplificados, dos quais 33,33% foram monomórficos e 66,67% de fragmentos polimórficos, o que representa um número médio de 4,9 fragmentos polimórficos por primer selecionado. Foi possível identificar a formação de quatro grupos com três amostras isoladas. O primeiro grupo formado pelos isolados TC041 e TC036 são amostras coletas de palmeira imperial e palmeira azul coletadas em Alagoas e Sergipe, respectivamente. Apesar da distância geográfica, estes isolados apresentaram uma similaridade genética de

<sup>1</sup> Graduando em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, andreluiz\_04@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Biólogo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, leandro.diniz@embrapa.br.

cerca de 70%, indicando uma proximidade genética relativamente grande. O segundo grupo foi formado pelos isolados TC012, TC004, TC005 e TC027, todos coletados em Sergipe na região do Platô de Neópolis, nas Fazendas H. Dantas e Saman. A similaridade genética entre estes isolados foi muito grande, variando entre 75% (isolados TC005 e TC027) e 91% (isolados TC004, TC005 e TC012) o que pode indicar uma mesma fonte de inóculo nestas áreas. Conclui-se que há o indicativo de uma grande diversidade genética entre os isolados estudados e que um estudo ampliado com mais isolados, mais primers (RAPD e específicos) e ainda o sequenciamento de regiões conhecidas, como ITS 1 e ITS2 bem como o gene 5,8S seria muito importante para uma melhor classificação dos isolados e análise de similaridade genética.

**Palavras-chave:** Coco, diversidade, RAPD, resinose.

## Introdução

A resinose é uma doença conhecida nas áreas produtoras de palmeiras no mundo, incluindo o coqueiro, sendo causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn) Höhl, anamorfo do ascomiceto *Ceratocystis paradoxa* (Dade), fungo filamentosso, patogênico de plantas, que vem causando prejuízos na produção de importantes culturas. Já foram relatadas doenças relacionadas com a infecção por *T. paradoxa* em diversas espécies de plantas tropicais como abacaxi (*Ananas comosus*), cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.), bananeira (*Musa* sp.), coqueiro (*Cocos nucifera* L.) e outras palmeiras da família Arecaceae. O agente pode estar presente no solo, nos insetos, ou ainda em ferramentas usadas na colheita e/ou na erradicação das plantas doentes, aumentando a chance de infecção da planta através de ferimentos (MOURA et al., 2007; FERREIRA; MICHEREFF FILHO, 2007). Nas áreas produtoras de coco no Brasil esta doença foi registrada em 2004 e, desde então, tem se disseminado gradualmente para outras áreas de produção (MOURA et al., 2007). Nesta cultura, o fungo também causa a podridão-negra-do-fruto ou podridão-do-fruto-maduro provocando perdas devido à queda prematura dos frutos jovens e também dos frutos mais desenvolvidos (HERNÁNDEZ; MENDES, 2009). Este fungo também pode ser encontrado em palmeiras ornamentais, muito utilizadas no Brasil e que podem se tornar verdadeiras fontes de inóculos.

Dentre os sintomas associadas ao fungo, destaca-se a resinose do coqueiro como sendo uma importante doença que já atinge grandes áreas da cocoicultura. O coqueiro é tido como uma das plantas cultivadas de maior importância no mundo,

especialmente em algumas regiões, onde se constitui na principal fonte alimentar e de renda para a população (FERREIRA, 2009). No Brasil, esta doença foi denominada resinose, pela observação da sintomatologia evidenciada pela exsudação da seiva que escorre pelo estipe do coqueiro (WARWICK et al., 2004). A situação é preocupante, pois a disseminação da resinose está ocorrendo rapidamente, aumentando o número de focos, e de coqueiros infectados a cada ano no Nordeste e Norte do Brasil (MOURA et al., 2007). Hoje a resinose pode ser considerada uma das mais importantes doenças do coqueiro no Brasil, pelos danos que provoca nas plantas e na produção. Atualmente, apenas algumas medidas com baixa eficácia são aplicadas as plantas infectadas.

Considerando que, apesar da relevância desta doença, praticamente não foram encontrados na literatura estudos sobre a variabilidade genética de *T. paradoxa* com a utilização de marcadores moleculares, o objetivo do presente estudo foi o de analisar através do uso de marcadores do tipo RAPD, a diversidade genotípica dos isolados coletados em diferentes hospedeiros em algumas regiões do estado de Sergipe comparando aos isolados coletados na Bahia e Alagoas.

## Material e Métodos

As atividades deste trabalho foram desenvolvidas no Laboratório de Fitopatologia e no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros (CPATC). Para esta análise foram selecionados 15 isolados (Tabela 1), coletados nos Estados de Sergipe, Bahia e Alagoas, pertencentes à coleção de *Thielaviopsis paradoxa* mantidas pela Embrapa CPATC. Estas amostras foram repicadas em meio BDA líquido onde cresceram submetidas a agitação, por 4 dias. Em seguida, a massa micelial passou por filtração a vácuo para retirada do meio, sendo congelado em seguida. Cerca de 2 g. do material foi macerado em nitrogênio líquido e submetido a extração utilizando protocolo estabelecido pelo Kit de Extração de DNA de Plantas e Fungos da Norgen Biotek®. Para a quantificação do DNA foi utilizado um espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo®).

**Tabela 1.** Elsolados de *Thielaviopsis paradoxa* coletados nos em Sergipe, Alagoas e Bahia.

Isolado	Hospedeiro (meio)	Origem
TC 003	Coqueiro(estipe)	H. Dantas, Platô de Neópolis-SE
TC 004	Coqueiro(estipe)	SAMAN, Platô de Neópolis-SE
TC 005	Inseto1Rp	H. Dantas, Platô de Neópolis-SE
TC 006	Inseto1Rp	Caipi Velho, São Cristovão-SE
TC 012	Inseto2Rp	H. Dantas, Platô de Neópolis-SE
TC 013	Inseto2Rp	Caipi Velho, São Cristovão-SE
TC 023	Coqueiro(estipe)	Piaçabuçu-AL
TC 027	Coqueiro(estipe)	H. Dantas, Platô de Neópolis-SE
TC 034	Coqueiro(estipe)	Conde, BA
TC 036	Palmeira Azul(raiz)	Caipi Velho, São Cristovão-SE
TC 040	Solo	Caipi Velho, São Cristovão-SE
TC 041	Palmeira Imperial(raiz)	Boca da Mata, AL
TC 042	Planta Ornamental(raiz)	Caipi Velho, São Cristovão-SE
TC 045	Solo1	Aruana, Aracaju-SE
TC 046	Solo2	Aruana, Aracaju-SE

Uma vez quantificada as amostras, as mesmas foram submetidas a amplificação por PCR utilizando inicialmente 15 primers de RAPD (Tabela 2) sendo cada reação feita em volume final de 20  $\mu\text{L}$ , sendo: 13,4  $\mu\text{L}$  de H<sub>2</sub>O ultra pura, 2  $\mu\text{L}$  de tampão, 0,4  $\mu\text{L}$  de dNTP, 2  $\mu\text{L}$  de cada primer, 0,2  $\mu\text{L}$  de Taq DNA polimerase (NeoBio<sup>®</sup>) e 50 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador Axygen<sup>®</sup> e o programa utilizado constituiu de uma desnaturação inicial a 96°C por 5 min, seguido por 45 ciclos de 95°C por 1 min, 36°C por 1 min e 72°C por 1 min com uma extensão final a 72°C por 10 min. O produto destas reações foi separado por eletroforese em gel de agarose a 1%, em tampão TBE 1X, utilizando o marcador de 1 Kb (Neobio), e após coloração em brometo de etídeo (10 mg/ $\mu\text{L}$ ) os géis foram expostos a luz ultravioleta e fotodocumentados com o aparelho L-Pix HE (Loccus<sup>®</sup>).

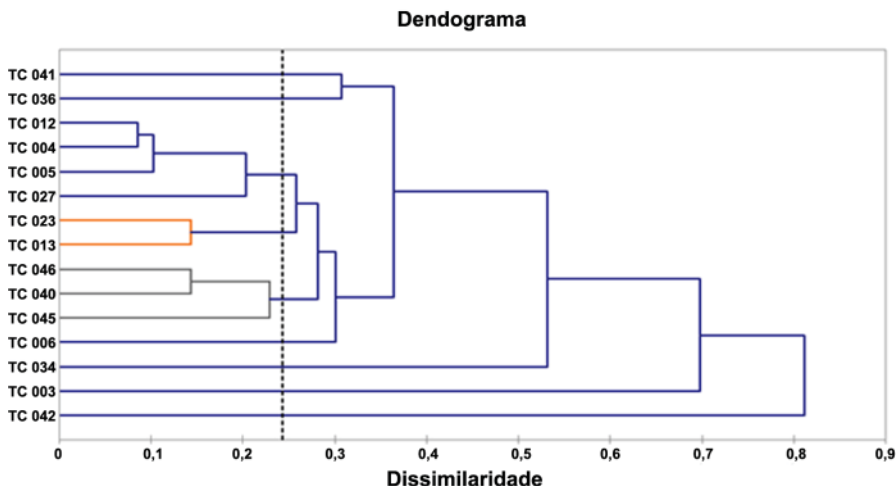
**Tabela 2.** Bandas geradas a partir de 15 primers de RAPD.

Primer	Sequencia 5' → 3'	Nº total de bandas	Nº de bandas polimórficas	Polimorfismo (%)
OPA11	CAATCGCCGT	6	5	83,3
OPA13	ATGGGTACCG	1	0	0
OPA15	ATGGGTACCG	6	6	100
OPA19	ATGGGTACCG	6	6	100
OPB11	ATGGGTACCG	6	6	100
OPK20	ATGGGTACCG	4	4	100
OPN20	ATGGGTACCG	8	8	100
OPT01	ATGGGTACCG	3	3	100
OPT02	ATGGGTACCG	2	2	100
OPT04	ATGGGTACCG	4	4	100
OPT12	ATGGGTACCG	6	6	100
OPT14	ATGGGTACCG	3	3	100
OPW03	ATGGGTACCG	6	5	83,3
OPW08	ATGGGTACCG	5	5	100
OPX03	ATGGGTACCG	11	11	100

## Resultados e Discussão

A análise inicial com os 15 primers de RAPD geraram um total de 111 fragmentos amplificados (Tabela 2), dos quais 33,33% foram monomórficos e 66,67% de fragmentos polimórficos, o que representa um número médio de 4,9 fragmentos polimórficos por primer selecionado.

Foi possível identificar a formação de quatro grupos com três amostras isoladas. O primeiro grupo formado pelos isolados TC041 e TC036 são amostras coletas de palmeira imperial e palmeira azul coletadas em Alagoas e Sergipe, respectivamente. Apesar da distância geográfica, estes isolados apresentaram uma similaridade genética de cerca de 70%, indicando uma proximidade genética relativamente grande (Figura 1). O segundo grupo foi formado pelos isolados TC012, TC004, TC005 e TC027, todos coletados em Sergipe na região do Platô de Neópolis, nas Fazendas H. Dantas e Saman. A similaridade genética entre estes isolados foi muito grande, variando entre 75% (isolados TC005 e TC027) e 91% (isolados TC004, TC005 e TC012) o que pode indicar uma mesma fonte de inóculo nestas áreas.



**Figura 1.** Dendrograma de dissimilaridade genética entre as 15 amostras avaliadas.

O terceiro grupo foi formado por apenas 2 isolados (TC013 e TC023) e apresentou uma similaridade genética muito alta, em torno de 86%. Estes isolados são de áreas relativamente distantes, sendo a primeira coletada em insetos encontrados na Fazenda CaiPI Velho em São Cristóvão, SE, e a segunda no estipe de coqueiro na cidade de Piaçabuçu, AL. Um quarto grupo foi formado pelos isolados TC040, TC045 e TC046, todos estes coletados diretamente do solo de regiões infectadas e com similaridade genética variando entre 74 e 86%. O fungo isolado do solo da Fazenda CaiPI Velho apresentou similaridade alta com quase todos os isolados obtidos no Estado de Sergipe (entre 70 e 81%), e deve ser melhor investigado.

O isolado TC006 coletado em São Cristóvão apresentou boa similaridade genética com os isolados TC013 e TC040 também coletados na mesma região (cerca de 73%). Já os isolados TC003 e TC042, coletados na Fazenda H. Dantas e CaiPI Velho, respectivamente, apresentaram alta dissimilaridade genética com todas as outras amostras, o que pode indicar isolados oriundos de regiões muito distantes, ou ainda que estes estão indevidamente classificados com *T. paradoxa*. Reforçando a necessidade de sequenciar as regiões ITS e 5,8S para melhor classificação destes isolados e comparação entre os diversos isolados da coleção mantida pela Embrapa Tabuleiros Costeiros.

A maior parte dos trabalhos publicados sobre *Thielaviopsis* sp. se concentra na espécie *T. basicola*. A importância dos estudos com *T. paradoxa* a fim de se conhecer o grau de diversidade genética e a partir desta análise entender um

pouco mais sobre o fungo e sua variabilidade, poderá auxiliar os estudos sobre patogenicidade, dispersão e controle. Até o presente momento, poucos trabalhos foram encontrados utilizando *T. paradoxa*, e geralmente associado a abacaxi como o de Costa Neto (2002) que identifica a presença deste fungo em pupunha (*Bactris gasipaes*) e o compara aos demais fungos endofíticos encontrados nesta planta, tendo encontrado após análise das regiões espaçadoras ITS 1 e 2 e do gene 5,8S pouca variabilidade genética.

## Conclusão

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que há o indicativo de uma grande diversidade genética entre os isolados estudados e que um estudo ampliado com mais isolados, mais primers (RAPD e específicos) e ainda o sequenciamento de regiões conhecidas, como ITS 1 e ITS2 bem como o gene 5,8S seria muito importante para uma melhor classificação dos isolados e análise de similaridade genética.

## Agradecimentos

Este trabalho foi sendo feito graças ao apoio da Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE), CNPq, Embrapa Tabuleiros Costeiros e Universidade Tiradentes/ITP.

## Referências

COSTA NETO, P. de Q. **Isolamento e identificação de fungos endofíticos da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e caracterização por marcadores moleculares.** São Carlos: UFSCar, 2002. 86 p.

FERREIRA, J. M. S.; MICHEREFF FILHO, M. Pragas e métodos de controle. In: FONTES, H. R.; FERREIRA, J. M. S.; SIQUEIRA, L. A. (Ed.). **A cultura do Coqueiro.** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2007. (Sistemas de Produção 1). Disponível e: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Coco/ACulturadoCoqueiro/pragas.htm>> Acesso em: 13 de Julho de 2012.

FERREIRA, J. M. S. Pragas e métodos de controle ajustados à baixa capacidade de investimento dos pequenos produtores rurais. In: CINTRA, F. L. D.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M. et al. (Ed.). **Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no Nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. 233 p. p.191-218.

CINTRA, F. L. D.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M.; FERREIRA, J. M. S. (Ed.). **Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. p. 191-218.

ROLLEMBERG, H. F.; PROCÓPIO, S. de O. **Resinose do coqueiro**: como identificar e manejar. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2007. 126 p.

MOURA, J. I. L.; VIEIRA, S. D.; BEZERRA, J. L. Resinose do Coqueiro. Cruzeiro, DF: CEPLAC, [2007]. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/RESINOSE%20DO%20COQUEIRO.pdf>> . Acesso em: 10 de Julho de 2012.

Warwick, D. R. N.; Ferreira, J. M. S.; Passos, E. E. M. Ocorrência de resinose do estipe do coqueiro em Sergipe provocada por *Chalara paradoxa*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p.171, 2004.



# Indução da Calogênese em *Caesalpinia pyramidalis* T.

**Kícia Karinne Pereira Gomes Copeland<sup>1</sup>; Ana da Silva Léo<sup>2</sup>; Caroline de Araújo Machado<sup>3</sup>; Juceni Pereira de Lima David<sup>4</sup>**

## Resumo

A catingueira possui um grande uso na medicina popular no tratamento de anemias, hepatites, infecções catarrais e diarreias. Nesse contexto, diversos procedimentos biotecnológicos vêm sendo desenvolvidos ao longo dos anos e a cultura de tecidos é a que mais se destaca como ferramenta para produzir metabólitos secundários de interesse. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes concentrações de 2,4-D, combinados ou não com BAP, na indução de calogênese em *Caesalpinia pyramidalis*, para futura obtenção de protocolos de produção in vitro de biflavonóides. Foram utilizados explantes nodal, internodal e disco foliar de plantas germinadas in vitro de catingueira. Estes foram inoculados em placas de Petri estéreis descartáveis (90 x 15 mm) contendo meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 30 g/L de sacarose, solidificado com 5 g/L de ágar e, acrescidos com 2,4-D (0; 2,5; 5 e 10 mg/L) e BAP (0 e 1 mg/L) combinados ou não. Na ausência e presença de BAP as culturas apresentaram um comportamento quadrático com aumento da formação de calos na presença de BAP até a concentração de 6,49 mg/L de 2,4-D e na ausência de BAP até 6,49 mg/L de 2,4-D com redução a partir desses valores. Os segmentos internodal e foliar apresentaram o mesmo comportamento quadrático, sendo que a maior produção de calo em segmento internodal ocorreu nas concentrações de 2,93 mg/L e 2,62 mg/L de 2,4-D na ausência e presença de BAP, respectivamente, e para o explante foliar na presença de 1,76 mg/L e 2,49 mg/L de 2,4-D na ausência e presença de BAP, respectivamente. Portanto, é necessário o uso de regulador de crescimento para indução de calos em catingueira sendo que as concentrações de 2,4-D na ausência e presença BAP

<sup>1</sup> Química, doutoranda em Biotecnologia da Renorbio/UFBA, Salvador, BA, kiciagomes@gmail.com.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, ana.ledo@embrapa.br.

<sup>3</sup> Bióloga, mestre em Agroecossistemas, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE, camachado1@hotmail.com.

<sup>4</sup> Farmacêutica Industrial, doutora em Química Orgânica, professora da Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, juceni@ufba.br.

que melhor induzem calo são 5,90 mg/L e 6,49 mg/L para o segmento nodal; 2,93 mg/L e 2,62 mg/L para o segmento internodal e, 2,49 mg/L e 1,76 mg/L para o segmento foliar, respectivamente.

**Palavras-chave:** Catingueira, organogênese, regulador de crescimento.

## Introdução

O bioma Catinga ocupa cerca de 11% (844.453 km<sup>2</sup>) do território nacional, sendo a região nordeste e o norte de Minas Gerais sua maior concentração (MMA, 2013). A *Poincianella pyramidalis*, conhecida popularmente como catingueira, é uma das espécies Catinga mais representativas e bem distribuídas, ocorrendo nos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia (MAIA, 2004).

A catingueira possui um grande uso na medicina popular no tratamento de anemias, hepatites, infecções catarrais e diarreias (MAIA, 2004; SILVA et al., 2009). Esse uso está associado aos compostos produzidos pela mesma como: biflavonóides, triterpenos, flavonóides, e fenilpropanóides (BAHIA et al., 2005). Nesse contexto, diversos procedimentos biotecnológicos vêm sendo desenvolvidos ao longo dos anos e a cultura de tecidos é a que mais se destaca como ferramenta para produzir metabólitos secundários de interesse. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes concentrações de 2,4-D, combinados ou não com BAP, na indução de calogênese em *Caesalpinia pyramidalis*, para futura obtenção de protocolos de produção in vitro de biflavonóides.

## Material e Métodos

Foram utilizados explantes nodal, internodal e disco foliar de *Caesalpinia pyramidalis* T., obtidos de plântulas germinadas *in vitro*, coletadas do município de Poço Redondo, SE, e cultivadas no laboratório de cultura de tecidos de plantas na Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

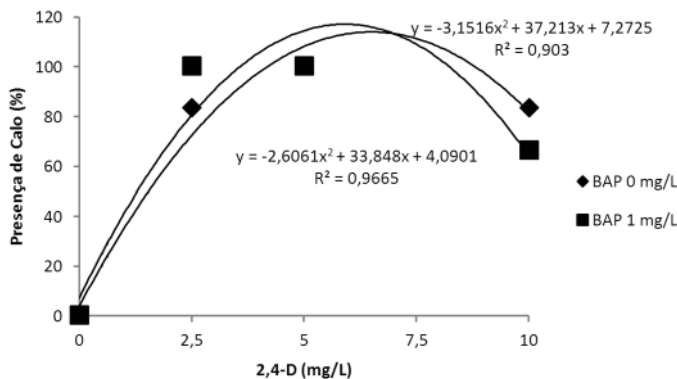
Os explantes, após excisão, foram inoculados em placas de Petri estéreis descartáveis (90 x 15 mm) contendo meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 30 g/L de sacarose, solidificado com 5 g/L de ágar e, acrescidos com 2,4-D (0; 2,5; 5 e 10 mg/L) e BAP (0 e 1 mg/L) combinados ou

não. Em seguida as culturas foram mantida no escuro em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 2$  °C. Aos 30 dias após a inoculação foi avaliada a porcentagem de explantes com formação de calo.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial  $3 \times 4 \times 2$  (3 segmentos, 4 concentrações de 2,4-D combinadas com 2 de BAP) 5 repetições com 4 explantes cada repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância, e quando significativo foram estimadas curvas de regressão, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2011).

## Resultados e Discussão

Houve diferença significativa da presença de 2,4 e BAP na porcentagem de segmentos nodais com calo. A indução dos calos em *C. pyramidalis* ocorreu entre 7 e 21 dias após a inoculação. Não houve formação de calos na ausência de reguladores de crescimento (Figura 1).

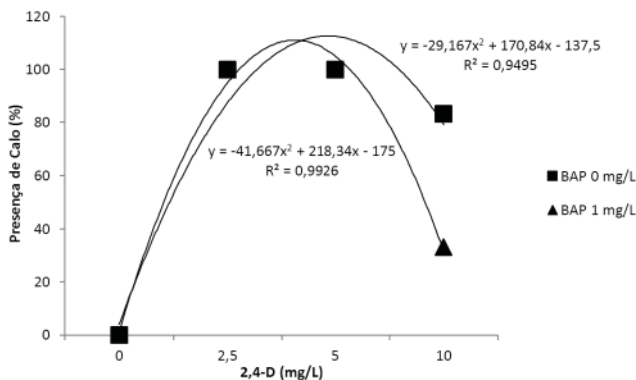


**Figura 1.** Presença de calos em segmento nodal de *P. pyramidalis* em função da concentração de 2,4-D na presença e ausência de BAP.

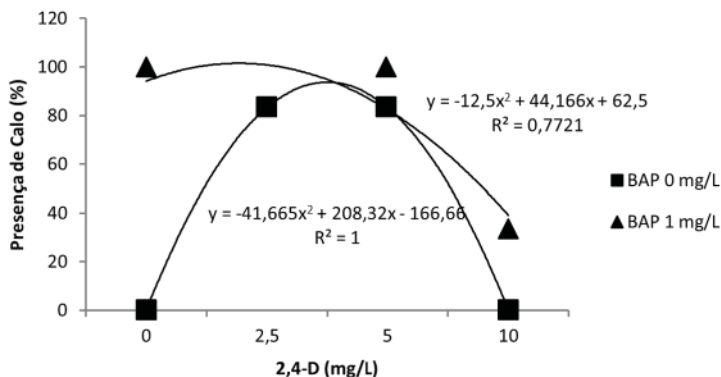
Na ausência e presença de BAP as culturas apresentaram um comportamento quadrático com aumento da formação de calos na presença de BAP até a concentração de 6,49 mg/L de 2,4-D e na ausência de BAP até 5,90 mg/L de 2,4-D com redução a partir desses valores. O desenvolvimento de calo pode ser independente de auxinas e citocininas, dependente de auxinas, dependente de citocininas ou dependente de ambas (JAIN et al., 1995). No caso da *P. pyramidalis*, a calogênese foi dependente da auxina 2,4-D combinada ou não com BAP.

Jardim et al. (2010) trabalhando com explantes de pau-rosa, obtiveram um aumento significativo na formação de calo ao serem submetidos a doses isoladas de auxinas e a combinação destas com citocininas. Observaram, ainda que, o uso de auxinas e citocininas foram preponderantes para a formação de calo nos explantes de pau-rosa. Segundo Santos et al. (2003) a relação intermediária entre os dois reguladores em questão, induz o calo.

Conforme apresentado nas Figuras 2 e 3, os segmentos internodal e foliar apresentaram o mesmo comportamento quadrático, sendo que a maior produção de calo em segmento internodal ocorreu nas concentrações de 2,93 mg/L e 2,62 mg/L de 2,4-D na ausência e presença de BAP, respectivamente, e para o foliar de 1,76 mg/L e 2,49 mg/L de 2,4-D na ausência e presença de BAP, respectivamente.



**Figura 2.** Presença de calos em segmento internodal de *P. pyramidalis* em função da concentração de 2,4-D na presença e ausência de BAP.



**Figura 3.** Presença de calos em segmento foliar de *P. pyramidalis* em função da concentração de 2,4-D na presença e ausência de BAP.

## Conclusões

- É necessário o uso de reguladores de crescimento para indução de calos em *C. pyramidalis*;

- As concentrações de 2,4-D na ausência e presença BAP que melhor induzem a formação de calo são 5,90 mg/L e 6,49 mg/L para o segmento nodal; 2,93 mg/L e 2,62 mg/L para o segmento internodal e, 2,49 mg/L e 1,76 mg/L para o segmento foliar, respectivamente.

## Referências

BAHIA, M. V.; SANTOS, J. B dos; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Biflavonoids and other Phenolics from *Caesalpinia pyramidalis* (Fabaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 16, n. 6B, p. 1402-1405, 2005.

JAIN, S. M.; GUPTA, P. K.; NEWMAN, R. J. **Somatic embryogenesis in wood plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, v. 2, 1995.

JARDIM, L. S.; SAMPAIO, P. T. B.; COSTA, S. S.; GONÇALVES, C.Q. B.; BRANDÃO, H. L. M. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na regeneração in vitro de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, p. 275-280, 2010.

MAIA, G. N. **Caatinga**: arvores e arbustos e suas utilidades. São Paulo: Leitura & Arte, 2004. p. 413,

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Biomas: caatinga. [2012]. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga/item/191>> . Acesso em: 26 de agosto de 2013.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

SANTOS, C.G.; PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O.; PAIVA, E. Induction and biochemical analysis of callus obtained from leaf segments of *Coffea arabica* L., Cultivar Rubi. Ver. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 27, n. 3, p. 571–577, 2003.

SILVA, L. B.; SANTOS, F. de A. R.; GASSON, P.; CUTLER, D. Anatomia e densidade básica da madeira de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabacea), espécie endêmica da caatinga do Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 436-445, abr./jun. 2009.

WERNER, E. T.; PESSOTTI, K. V.; LOPES, F. P.; ROGER, J. A. Controle da calogênese do Pau-Brasil in vitro. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 6, p. 987-996, 2009.

# Revigoração e Patogenicidade do Isolado CPATC 032 do Fungo Entomopatogênico *Beauveria bassiana*

Yasmim Nunes Carvalho<sup>1</sup>; Francisco José dos Santos<sup>2</sup>; Adenir Vieira Teodoro<sup>3</sup>

## Resumo

O coqueiro é atacado por diversas pragas, dentre as quais a broca-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum*, responsável por redução de produtividade. Uma forma de controlar essa praga é a utilização de agentes biológicos como o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* que tem demonstrado excelente potencial de controle do *R. palmarum*. O presente trabalho teve como objetivo a revigoração e determinação da viabilidade e patogenicidade do isolado CPATC 032 de *B. bassiana* à broca-do-coqueiro com vistas ao seu uso posterior em estudos de formulação de bioinseticidas. A viabilidade estimada por meio da contagem do número de conídios germinados e não germinados após período de 24 horas. As concentrações letais (CLs) foram estimadas por análise de Probit a partir de dados de mortalidade de adultos de *R. palmarum* submetidos a concentrações crescentes de *B. bassiana* utilizando uma torre de Potter. A CL<sub>50</sub>, concentração letal de conídios necessários para matar 50% da população, e um importante parâmetro de toxicidade foi estimada em  $2,3 \times 10^8$  enquanto que a concentração  $4,6 \times 10^{10}$  foi suficiente para causar a morte de 95% dos insetos pulverizados (CL<sub>95</sub>). A curva de concentração-mortalidade seguiu uma sigmoide com o aumento da mortalidade de *R. palmarum* com a concentração de conídios do fungo *B. bassiana*. O isolado CPATC 032 do fungo entomopatogênico *B. bassiana* apresenta alta viabilidade de conídios e patogenicidade à broca-do-coqueiro *R. palmarum* e portanto pode ser usado no controle biológico dessa praga.

<sup>1</sup> Graduanda de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, bolsista da FAPITEC/PIBITI, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, yasmimncarvalho@gmail.com.

<sup>2</sup> Analista A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, francisco.j.santos@embrapa.br.

<sup>3</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, adenir.teodoro@embrapa.br.

## Introdução

O coqueiro *Cocos nucifera* é uma importante cultura do Norte e Nordeste do Brasil no contexto socioeconômico e ambiental dessas regiões. A broca-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) é uma das principais pragas do coqueiro no Brasil e tem provocado perdas na produção (FERREIRA et al., 1998; FERREIRA; MICHEREFF FILHO 2002; EPPO 2005). A fêmea da broca-do-coqueiro penetra as partes mais tenras da planta, onde coloca os seus ovos. As larvas desenvolvem-se no interior da planta formando galerias no meristema apical resultando em sua morte enquanto os besouros adultos são vetores de nematoides que causam a doença conhecida como anel vermelho (FERREIRA et al., 1998; EPPO 2005). O controle químico ainda é uma das principais formas de combate de pragas do coqueiro, causando aumento no custo de produção e problemas como surtos de novas pragas, surgimento de resistência aos produtos químicos utilizados, intoxicações dos operários e animais, danos ambientais e riscos à saúde dos consumidores (FERREIRA et al., 1998; GEIGER et al., 2011). O controle microbiano de pragas com fungos entomopatogênicos, como *Beauveria bassiana*, é uma alternativa que auxilia na recuperação do equilíbrio do agroecossistema e contribui para manter a população da praga abaixo do nível de dano econômico (ALVES 1998; GALLO et al., 2002; DALZOTO; UHRY 2009). O controle de pragas com agentes biológicos possibilita a redução e/ou eliminação de pesticidas sintéticos nas lavouras, aumentando assim a proteção ambiental (AHMED et al., 1994; MICHEREFF FILHO et al., 2009; MORAES et al., 2010). Nesse contexto, esse trabalho objetivou a revigoração e determinação da viabilidade e patogenicidade do isolado CPATC 032 do fungo *B. bassiana* sobre a broca-do-coqueiro com vistas ao seu uso posterior em estudos de formulação de bioinseticidas.

## Material e Métodos

Coletas periódicas de adultos de *R. palmarum* foram realizadas em coqueirais da região de Neópolis – SE. Os insetos foram levados ao laboratório e mantidos em recipientes plásticos com pedaços de cana-de-açúcar como alimento. O isolado CPATC 032 do fungo *B. bassiana* foi cultivado em meio BDA por isolamento monospórico, e produções de matrizes e massal foram realizadas em substrato de arroz parboilizado. O substrato colonizado foi desumidificado em ambiente climatizado a aproximadamente 26 °C e 30% de umidade relativa, e os conídios foram obtidos por separação mecânica, sendo submetidos em seguida à



dessecação e logo após análise microscópica de rendimento e germinação. Para a determinação da viabilidade, suspensões de conídios contendo Tween a 0,05% foram preparadas. Posteriormente foram preparadas diluições seriadas da suspensão ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ). Uma gota de cada suspensão foi espalhada em placa de Petri com meio BDA e as placas foram colocadas em BOD a 26 °C para posterior contagem do número de conídios germinados e não germinados após 24 horas para determinação da viabilidade. Os bioensaios de patogenicidade foram realizados em laboratório para determinação de concentrações letais (CLs) de *B. bassiana* a adultos de *R. palmarum*. Os insetos adultos foram pulverizados utilizando uma torre de Potter (Potter 1952) com concentrações crescentes do isolado CPATC 032 de *B. bassiana* e diariamente avaliados quanto à mortalidade ao longo de três semanas. Foram realizadas cinco concentrações com dez repetições cada uma. Os adultos de *R. palmarum* foram colocados em recipientes plásticos, contendo um casal em cada recipiente, e alimentados com pedaços de cana-de-açúcar. Os dados de mortalidade em função da concentração de *B. bassiana* foram submetidos à análise de Probit por meio do procedimento PROC PROBIT (SAS INSTITUTE 2002). A infecção foi confirmada em câmara úmida.

## Resultados e Discussão

A viabilidade de conídios do isolado CPATC 032 foi de 99,2% em condições padronizadas de laboratório. As concentrações letais de conídios de *B. bassiana* a adultos da broca-do-coqueiro são apresentadas na Tabela 1 e na Figura 1. A  $CL_{50}$ , concentração letal de conídios necessários para matar 50% da população, e um importante parâmetro de toxicidade (OLIVEIRA et al., 2010) foi estimada em  $2,3 \times 10^8$  enquanto que a concentração  $4,6 \times 10^{10}$  foi suficiente para causar a morte de 95% dos insetos pulverizados ( $CL_{95}$ ) (Tabela 1, Figura 1). A curva de concentração-mortalidade seguiu uma sigmoide com o aumento da mortalidade de *R. palmarum* com a concentração de conídios do fungo *B. bassiana* (Figura 1).

**Tabela 1.** Toxicidade de conídios do fungo *Beauveria bassiana* à broca-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* ( $n = 34$ ,  $\chi^2 = 0,22$ ,  $P = 0,89$ ). Concentrações letais (CLs) estimadas com base em bioensaios de concentração-mortalidade usando análises de Probit. IC = Intervalo de Confiança.

CL <sub>5</sub> (95% IC)	CL <sub>10</sub> (95% IC)	CL <sub>25</sub> (95% IC)	CL <sub>50</sub> (95% IC)
$1,1 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$	$2,6 \times 10^7$	$2,3 \times 10^8$
( $1,9 \times 10^4$ - $80 \times 10^6$ )	( $1,3 \times 10^5$ - $1,9 \times 10^7$ )	( $2,8 \times 10^6$ - $9,5 \times 10^7$ )	( $6,1 \times 10^7$ - $7,8 \times 10^8$ )

Continua...

Tabela 1. Continuação.

CL <sub>75</sub> (95% IC)	CL <sub>90</sub> (95% IC)	CL <sub>95</sub> (95% IC)
2x10 <sup>9</sup>	1,4x10 <sup>10</sup>	4,6x10 <sup>10</sup>
(6,2x10 <sup>8</sup> -1,3x10 <sup>10</sup> )	(3,2x10 <sup>9</sup> -2,7x10 <sup>11</sup> )	(8,1x10 <sup>9</sup> -1,8x10 <sup>12</sup> )

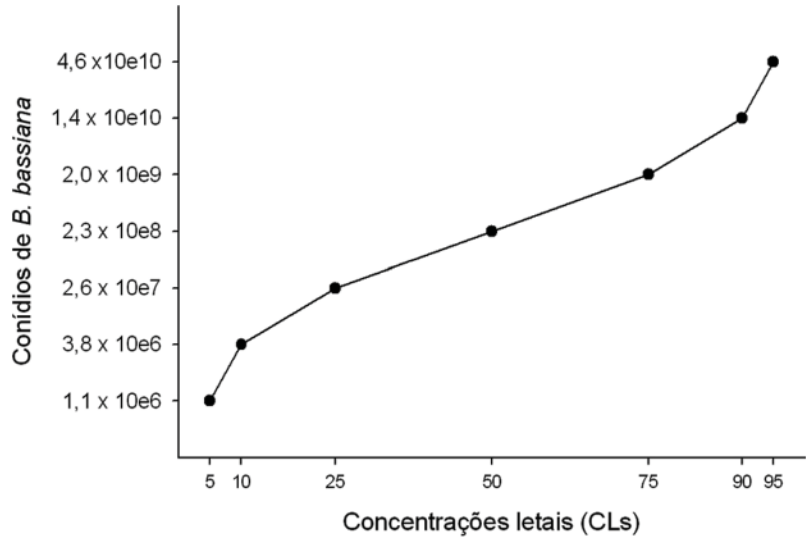


Figura 1. Curva de concentração letal de conídios do fungo *Beauveria bassiana* à broca-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* de acordo com análises de Probit.

Conclusões

O isolado CPATC 032 do fungo entomopatogênico *B. bassiana* apresenta alta viabilidade de conídios e patogenicidade à broca-do-coqueiro *R. palmarum* e portanto pode ser usado no controle biológico dessa praga.

Referências

AHMED, S. I.; LEATHER, S. R. Suitability and potential of emtomopathogenc microorganisms for forest pest management – some points for consideration. **International Journal of Pest Management**, London, v. 40, p. 287-292, 1994.

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba, SP: FEALQ, 1998. p. 289-370.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). *Rhinophorus palmarum*. **Bulletin OEPP/EPPO**, Paris, v. 35, p. 468-471, 2005.

FERREIRA, J. M. S.; MICHEREFF FILHO, M. (Ed.). **Produção integrada do coco: práticas fitossanitárias**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 107 p.

GALLO, D.; NAKANO O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VEDRAMIN, J. D. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2002. . 649 p.

GEIGER, F.; BENGTTSSON, J.; WEISSER, W. W.; EMMERSON, M.; MORALES, M. B.; CERYGIER, P.; LIIRA, J.; TSCHARNTKE, T.; WINQVIST, C.; EGGERS, S.; BOMMARCO, R.; PAERT, T.; BRETAGNOLLE, V.; PLANTEGEEST, M.; CLEMENT, L. W.; DENNIS, C.; PALMER, C.; OÑATE, J. J.; GUERRERO, I.; HAWRO, V.; AAVIK, T.; THIES, C.; FLOHRE, A.; HAENKE, S.; FISCHER, C.; GOEDHART, P. W.; INCHAUSTI, P.W. **Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland**. Basic and Applied Ecology 11: 97-105, 2011.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA, M. R.; OLIVEIRA, S. O. D.; SOUZA, R. E. T.; ALLAM, T. D.; BAROM, E. B.; PLIVEIRA, M. W. M.; GUIMARÃES, J. A.; LIZ, R. S.; SCHIMIDT, F. G. V. **Desenvolvimento de biopesticida à base de *Beauveria bassiana* para controle de *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)**. Brasília, EMBRAPA Hortaliças, 2009.

MORAES, A. P. R.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; BITTENCOURT, A. J. **Patogenicidade de *Beauveria bassiana* sobre estágios imaturos de *Stomoxys calcitrans***. Ciência Rural 40: 1802-1807, 2010.

OLIVEIRA, F. Q.; BATISTA, J. L.; MALAQUIAS, J. B.; ALMEIDA, D. M.; OLIVEIRA, R. **Determination of the median lethal concentration (CL<sub>50</sub>) of mycoinsecticides for the control os *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)**. Revista Colombiana de Entomologia 36: 213-216, 2010.

POTTER, C. **An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray films.** Annals of Applied Biology 39: 1-29, 1952.

SAS Institute. **SAS/STAT User's guide.** Version 8. SAS Institute, Cary, NC, USA. 2002.

# Diversidade Genética de Germoplasma de Nim Indiano Utilizando Marcadores ISSR

*Renato Guimarães Silveira<sup>1</sup>; Marina Ferreira Vitória<sup>2</sup>; Ana Veruska Cruz da Silva<sup>3</sup>*

## Resumo

Muitas espécies exóticas são introduzidas no Brasil com a finalidade econômica, porém é necessário um estudo sobre a diversidade genética para futuros programas de melhoramento, conduzindo-as à seleção de indivíduos superiores. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a diversidade genética entre 39 acessos de nim indiano, pertencentes a Embrapa Tabuleiros Costeiros. O uso de 18 marcadores ISSR resultou em 127 fragmentos, 100% polimórficos. Foi possível estimar a variabilidade existente entre os acessos pelo coeficiente de similaridade de Jaccard e método UPGMA. Os marcadores ISSR permitiram a caracterização molecular do BAG nim, sendo uma ferramenta útil para estimar a diversidade genética.

**Palavras-chave:** *Azadirachta indica*, marcadores moleculares, variabilidade genética.

<sup>1</sup> Graduando de Engenharia Florestal, bolsista do PIBIC/FAPITEC, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, renatosilveira16@hotmail.com.

<sup>2</sup> Graduanda em Engenharia Florestal da Universidade Federal de Sergipe, bolsista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Engenheira-agrônoma, pós-doutora em Produção Vegetal, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, adenir.teodoro@embrapa.br.

## Introdução

*Azadirachta* é um gênero de plantas pertencentes à família Meliaceae, e apresenta duas espécies importantes: *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs, e *Azadirachta indica* (MABBERLEY et al., 1995). Ambas são popularmente conhecidas por nim indiano, nativas da região Indo-Malásia e utilizadas na produção agropecuária, medicamentos e cosméticos (NATIONAL..., 1992).

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) são uma alternativa para a conservação dos recursos genéticos vegetais. A avaliação da diversidade genética entre os acessos de um BAG resulta em informações sobre potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento; possibilita a identificação de duplicatas e o intercâmbio de germoplasma entre pesquisadores; e de acordo com Nass (2007), é uma forma de conciliar os esforços de conservação da agrobiodiversidade com o desenvolvimento sustentável.

Em 2009 foi implantado o Banco Ativo de Germoplasma de Nim indiano, na Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Aracaju, SE. O objetivo do presente trabalho foi estimar a variabilidade genética entre os acessos desse germoplasma, utilizando marcadores ISSR.

## Material e Métodos

O processo de extração de DNA seguiu o protocolo de Doyle e Doyle (1990), com modificações (PINHEIRO et al., 2012). A concentração do DNA extraído foi determinada em espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific). Após a quantificação, as amostras foram diluídas em solução TE para a concentração de 25 ng/ $\mu$ L e armazenadas a -20 °C para subsequente uso nas reações de ISSR.

As reações de PCR foram preparadas para volume final de 20  $\mu$ L, constituído por: água ultrapura, dNTPs (10 mM), tampão (10x), MgCl<sub>2</sub> (50 mM), primers (5 mM), Taq DNA polimerase Promega® (5 u/ $\mu$ L) e DNA (25 ng/ $\mu$ L).

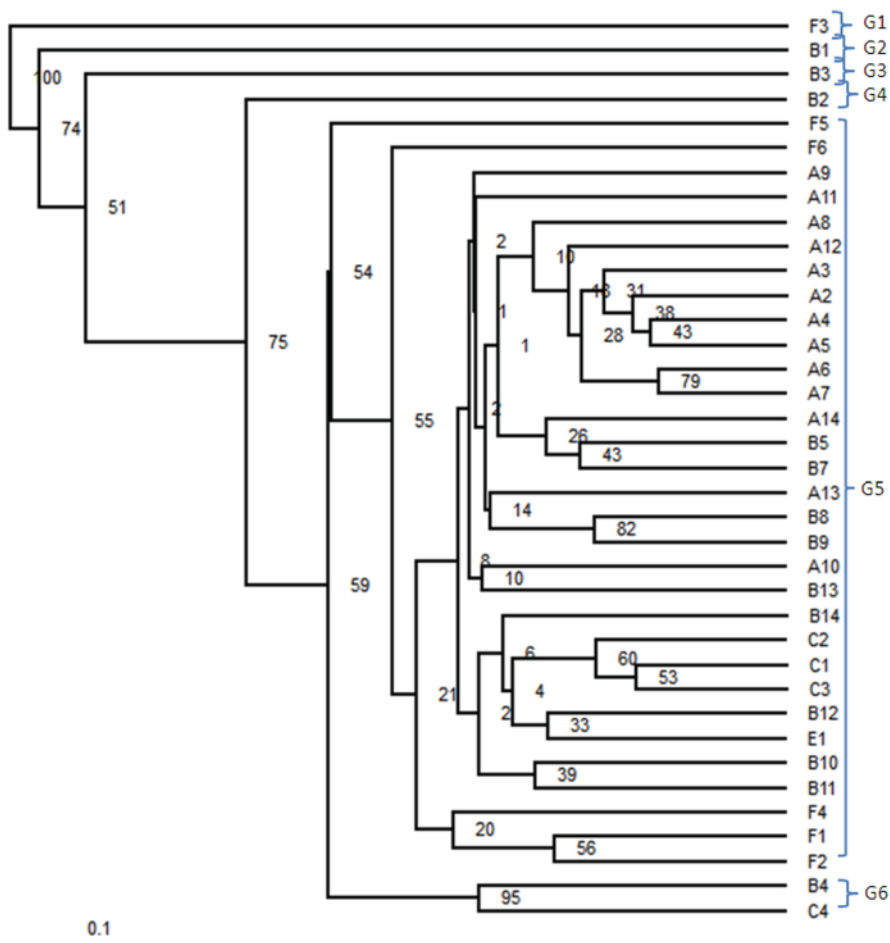
Os produtos da reação foram aplicados em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídeo e corridos em eletroforese horizontal a 90 V por 1 h e 15 min. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz ultravioleta e as imagens foram armazenadas digitalmente.

Foram geradas matrizes binárias, em que os indivíduos foram genotipados quanto à presença (1) e ausência de bandas (0). O cálculo da similaridade genética ( $S_{ij}$ ) entre cada par de indivíduos foi realizada por meio do programa FreeTree, empregando-se os coeficientes de Jaccard. A partir da matriz de similaridade de Jaccard, foi gerado um dendrograma por UPGMA, utilizando-se o programa Tree View.

## Resultados e Discussão

As reações de PCR com os 18 primers ISSR resultaram em 127 fragmentos, todos polimórficos, indicando alta variabilidade entre os acessos. Esse alto índice de polimorfismo também foi encontrado por Pinheiro et al., 2012, quando utilizaram ISSR para avaliar a divergência genética de *Cattleya labiate* no nordeste brasileiro. O número de fragmentos foi superior ao encontrado por Silva et al. (2013), em germoplasma de nim indiano, utilizando marcadores RAPD, onde 17 primers resultaram em 43 bandas, com também 100% de polimorfismo.

As distâncias genéticas entre os acessos, estimada pelo coeficiente de similaridade de Jaccard, foram usados para construção de um dendrograma UPGMA (Figura 1), onde é possível observar os agrupamentos formados pelos acessos.



**Figura 1.** Dendrograma gerado pelo coeficiente de Jaccard e método UPGMA com análises bootstraps (7.000 X) para acessos de nim indiano (*Azadirachta* sp.), pertencentes a Embrapa Tabuleiros Costeiros (Aracaju, Sergipe, Brasil).

Os genótipos F3, B1, B3 e B2 foram os mais distantes e formaram grupos isolados. Houve a formação de um grande grupo, formado por A9, A11, A8, A12, A3, A2, A4, A5, A6, A7, A14, B5, B7, A13, B8, B9, A10, B13, B14, C2, C1, C3, B12, E1, B10, B11, F4, F1, F2. Os indivíduos mais similares foram B4 e C4 ( $0,95 \pm 0,05$ ) e formaram o último grupo.



## Conclusão

Os marcadores ISSR permitem a caracterização molecular de germoplasma de nim indiano, sendo uma ferramenta útil para estimar a diversidade genética.

## Referências

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, Califórnia, v. 19, p. 11-15, 1987.

MABBERLEY, D. J.; PANNELL, C. M.; SING, A. M. **Meliaceae**: flora malesiana. Leiden, Netherlands: Foundation Flora Malesiana, 1995. (Series I, v. 12, n. 1).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Neem**: a tree for solving global problems. Washington: National Academy Press, 1992. p. 152.

NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858 p.

PINHEIRO, L. R.; RABBANI, A. R. C.; SILVA, A. V. C.; LEDO, A. S.; PEREIRA, K. L. G.; DINIZ, L. E. C. "Genetic diversity and population structure in the Brazilian *Cattleya labiata* (Orchidaceae) using RAPD and ISSR markers". **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 298, p. 1815-1825, 2012.

SILVA A.V.C, RABBANI A.R.C., ALMEIDA C.S., CLIVATI D. Genetic structure and diversity of the neem germplasm bank from Brazil Northeast, **African Journal of Biotechnology**, Bowie, MD, v. 12, p. 2822-2829, 2013.

# Transformação Genética de *Musa* spp. com Promotor de Expressão Gênica Tecido-específico Parcialmente Deletado

Rita de Cássia Monte Alegre Sousa Teles<sup>1</sup>; Leandro Eugenio Cardamone Diniz<sup>2</sup>

## Resumo

A banana (*Musa* spp.) é uma espécie cultivada em mais de 100 países tropicais e subtropicais. Esta fruteira é o alimento básico na dieta de mais de 400 milhões de pessoas, possuindo um importante papel social e econômico nos países produtores. A banana é uma cultura bastante versátil, capaz de ser cultivada em diferentes ambientes, o que a torna interessante para produção por pequenos produtores, produz o ano todo e é mantenedora da fertilidade do solo. No aspecto nutricional, a banana é uma importante cultura de segurança alimentar, sendo considerada uma rica fonte de energia, sais minerais e vitaminas. O cultivo da bananeira é afetado por diversos problemas fitossanitários causados por fungos, bactérias, vírus, nematóides e insetos. Os fungos são indiscutivelmente os agentes infecciosos de maior importância para a bananicultura brasileira, e causam diversas doenças de pré e pós-colheita, tais como, “Mal-do-Panamá” (*Fusarium oxysporum* f.sp. cubense), Sigatoka amarela (*Mycosphaerella musicola*) e Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). As pragas e doenças são responsáveis por severas perdas na produção de banana, que, a depender dos fatores envolvidos, pode ser de até 100%, uma vez que, em muitos casos, não existe nenhuma alternativa de controle. O promotor é uma região reguladora do DNA localizada upstream da sequência codante do gene, sendo constituído por sequências de nucleotídeos que funcionam como ponto de reconhecimento para a ligação da RNA polimerase, conferindo assim, um ponto de controle para a transcrição regulada do gene. Em eucariotos, o início da transcrição depende da ligação ao promotor de um conjunto de proteínas designadas fatores de transcrição. Estes fatores se ligam às sequências promotoras, recrutando a RNA polimerase, a enzima que sintetiza o RNA a partir da região codante do gene. Como os promotores tipicamente são imediatamente adjacentes ao gene em questão, a posição dos promotores é designada relativamente ao sítio de início da transcrição,

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Tiradentes, Aracaju, SE.

<sup>2</sup> Biólogo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, leandro.diniz@embrapa.br.

onde a transcrição do RNA começa por um gene em particular, ou seja, posições upstream são números negativos iniciando a contagem pelo -1, por exemplo, -100 é a posição 100 pares de bases upstream. Com isso, os objetivos deste trabalho foram isolar e clonar uma região promotora de expressão gênica de caráter tecido-específico (folha) parcialmente deletado (core-promoter) e iniciar o processo de validação deste promotor através da transformação genética de uma região promotora de expressão gênica em *Musa spp.*

**Palavras-chave:** banana, promotor, tecido-específico, transformação.

## Introdução

A banana (*Musa spp.*) é uma espécie cultivada em mais de 100 países tropicais e subtropicais. Esta fruteira é o alimento básico na dieta de mais de 400 milhões de pessoas, possuindo um importante papel social e econômico nos países produtores. A banana é uma cultura bastante versátil, capaz de ser cultivada em diferentes ambientes, o que a torna interessante para produção por pequenos produtores, produz o ano todo e é mantenedora da fertilidade do solo. No aspecto nutricional, a banana é uma importante cultura de segurança alimentar, sendo considerada uma rica fonte de energia, sais minerais e vitaminas.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de bananas, tendo produzido 6,8 milhões de toneladas (9,3% da produção mundial) no ano 2005, em uma área de 499.230 hectares (FAO, 2007). A bananeira é cultivada de Norte a Sul do País, sendo fundamental para a complementação da dieta alimentar das populações de baixa renda. Praticamente toda fruta produzida é comercializada no mercado interno. A maioria dos bananicultores é composta por pequenos produtores, e o setor da bananicultura no Brasil gera mais de 500 mil empregos diretos. As regiões Nordeste e Sudeste do Brasil, juntas, respondem por 67% da produção nacional (IBGE, 2006).

O cultivo da bananeira é afetado por diversos problemas fitossanitários causados por fungos, bactérias, vírus, nematóides e insetos (CORDEIRO; MATOS, 2003). Os fungos são indiscutivelmente os agentes infecciosos de maior importância para a bananicultura brasileira, e causam diversas doenças de pré e pós-colheita, tais como, “Mal-do-Panamá” (*Fusarium oxysporum* f.sp. cubense), Sigatoka amarela (*Mycosphaerella musicola*) e Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) (SOUZA JÚNIOR et al., 2005).

O cultivo comercial de banana demanda, no seu contexto global, um amplo uso de pesticidas, levando a uma constante ameaça ao meio ambiente e à saúde humana nos países produtores pobres e à viabilidade econômica das indústrias. Somente um patógeno, o fungo *M. fijiensis* exige em alguns países da América Latina entre 50-60 aplicações anual de fungicida. A importância do controle genético desse patógeno é de caráter urgente, já que a produção da banana em nível mundial vem passando por uma série de análises públicas de caráter crítico que demandam segurança alimentar e ambiental, dentro de um contexto de sustentabilidade da cultura.

O promotor é uma região reguladora do DNA localizada upstream da sequência codante do gene, sendo constituído por sequências de nucleotídeos que funcionam como ponto de reconhecimento para a ligação da RNA polimerase, conferindo assim, um ponto de controle para a transcrição regulada do gene. Em eucariotos, o início da transcrição depende da ligação ao promotor de um conjunto de proteínas designadas fatores de transcrição. Estes fatores se ligam às sequências promotoras, recrutando a RNA polimerase, a enzima que sintetiza o RNA a partir da região codante do gene (REMY et al., 2005). Como os promotores tipicamente são imediatamente adjacentes ao gene em questão, a posição dos promotores é designada relativamente ao sítio de início da transcrição, onde a transcrição do RNA começa por um gene em particular, ou seja, posições upstream são números negativos iniciando a contagem pelo -1, por exemplo, -100 é a posição 100 pares de bases upstream (SANTOS et al., 2007).

Com isso, os objetivos deste trabalho foram isolar e clonar uma região promotora de expressão gênica de caráter tecido-específico (folha) parcialmente deletado (core-promoter) e iniciar o processo de validação deste promotor através da transformação genética de uma região promotora de expressão gênica em *Musa spp.*

## Material e Métodos

Oito candidatos de 55 sequências potencialmente promotoras de expressão gênica foram selecionadas por seu caráter tecido-específico no genoma da bananeira. Destas, uma sequência potencialmente promotora de expressão gênica de caráter tecido-específico foi selecionada para clonagem e transformação genética de suspensão celular de duas variedades de bananeira, em sua versão parcial (parcialmente deletado). Para isso foram utilizados:

**1. Isolamento, clonagem e transformação genética de suspensão celular embriogênica de banana via *Agrobacterium* utilizando uma região promotora (versão parcial) de expressão gênica em *Musa* spp.**

**1.1. Isolamento da região promotora (versão parcial) de expressão gênica em *Musa* spp. de caráter tecido-específica.**

Os clones de BAC contendo o gene selecionado (associado ao promotor de interesse) foram obtidas no Global Musa Genomics Consortium (GMGC - <http://www.musagenomics.org/>). Para o isolamento do DNA plasmidial contendo o inserto onde se encontra o gene foi preparado 5 ml de meio LB líquido (contendo 12,5 µg/mL de cloranfenicol) e em seguida inoculado no meio líquido parte do meio de cultura estoque (stab culture) utilizando ponteira estéril; em seguida este meio líquido foi mantido sob agitação (220 rpm) a 37°C por 16 horas. Após crescimento das bactérias foram preparadas duas alíquotas de 1 ml contendo 25% de glicerol e mantidas a -80°C e os demais 3 ml foram utilizados para extração de DNA utilizando o kit Large-Construct (QIAGEN), segundo as recomendações do fabricante. Este DNA extraído foi quantificado e padronizado a 50 ng/µl. Amplicons contendo as sequências dos promotores foram obtidos mediante uso do kit ProofStart PCR (QIAGEN), e as condições de amplificação foram adaptadas à sequência do promotor a ser isolado, segundo recomendações do fabricante.

**1.2. Clonagem da região promotora isolada em pDRIVE e pCAMBIA1319z.**

Estes amplicons foram submetidos ao kit A-adding (QIAGEN), e depois inseridos no vetor T/A pDRIVE (QIAGEN). Depois de inseridos no vetor pDRIVE, estes foram utilizados para transformar células competentes de *E. coli* XL1-Blue (Stratagene). O DNA plasmidial contendo o amplicon foi isolado das células bacterianas utilizando o kit QIAprep spin mini-prep (QIAGEN), e submetidos a digestão com enzimas de restrição para estimativa/confirmação do tamanho do inserto. Estes clones foram então submetidos à sequenciamento para confirmação da identidade dos insertos. Em havendo a confirmação da identidade dos insertos, os mesmos seriam transferidos para o vetor pCAMBIA1319z.

Este vetor apresenta uma versão sem promotor do gene *gusA* (N358Q), com o íntron do gene da catalase imediatamente “downstream” a uma sequência truncada de *lacZa* contendo o sítio múltiplo de clonagem dos vetores pUC8 ou pUC9. O vetor pCAMBIA1319z apresenta o gene de resistência a higomicina como gene marcador de resistência para seleção de plantas, e o gene de

resistência a kanamicina como gene marcador de resistência para seleção de bactéria transformada. O lacZa truncado é funcional para discriminação entre colônias azuis e brancas de estirpes de *E. coli*. Após esta confirmação, os promotores clonados seriam utilizados para transformação de células em suspensão de bananeiras de duas variedades disponibilizadas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF).

## Resultados e Discussão

Após o recebimento dos clones BAC pelo Global Musa Genomics Consortium (GMGC) procedemos ao processo de extração de DNA destas bactérias a fim de isolarmos os fragmentos de DNA que tínhamos o interesse em trabalhar para a obtenção das sequências de DNA dos promotores de interesse. No entanto, em um primeiro momento para nenhum dos clones BAC recebidos foi possível proceder a extração do DNA. As bactérias não cresciam no meio LB com cloranfenicol. Alternativamente tentamos crescer as bactérias em meio 2YT contendo também o antibiótico. Novamente sem sucesso.

Após 3 meses de tentativa solicitamos novamente ao GMGC novas bactérias para serem enviadas o que foi feito somente no mês de maio deste ano. Após este grande atraso conseguimos proceder a extração do DNA dos clones BAC para isolamento da sequência promotora de interesse. Uma vez feita a extração fizemos a digestão com enzimas de restrição para liberação do fragmento e confirmação do tamanho do fragmento esperado, sendo confirmado em gel de agarose.

Após esta confirmação procedeu-se a clonagem da região promotora utilizando os vetores pDRIVE e pCAMBIA1319z, nesta etapa novo atraso devido a ineficiência dos vetores, que já estavam armazenados a muito tempo. Mesmo assim, após 5 tentativas foi possível a seleção dos clones para serem utilizados na transformação. Para a utilização dos clones selecionados foram feitos sequenciamentos de todos os clones selecionados (cerca de 60), os quais só foram sequenciados no início de julho, o que infelizmente não possibilitou a conclusão desta etapa por ainda não ter sido enviado. Após esta etapa, serão feitas as etapas de transformação das suspensões celulares e seleção dos transformantes utilizando antibióticos seletivos nos meios de cultura.

## Conclusões

Os promotores de caráter tecido-específico foram com muito atraso selecionados e isolados, no entanto, para que a etapa de transformação das suspensões celulares seja finalizada precisamos dos dados de sequenciamento. As células em suspensão de banana já estão prontas para serem transformadas.

## Referências

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças da bananeira. In: FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P (Ed.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológica, 2003. p. 687.

FAO (2007) . FAOSTAT: production crops. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>> . Acesso em: 05 agosto 2013.

IBGE (2006). SIDRA: Sistema IBGE de Recuperação Automática. Estabelecimentos na agropecuária - unidades Brasil. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/>> . Acesso em: 05 agosto 2013.

REMY, S.; THIRY, E.; COEMANS, B.; WINDELINCKX, S.; SWENNEN, R.; SÁGI, L. Improved T-DNA vector for tagging plant promoters via high-throughput luciferase screening. **BioTechniques**, Notick, v. 38, n. 5, p. 763-770, 2005.

SANTOS, E.; REMY, S.; THIRY, E.; WINDELINCKX, S.; SWENNEN, R.; SÁGI, L. Characterization and isolation of a T-DNA tagged banana promoter active during in vitro regeneration and low temperature stress. **Journal of Experimental Botany**, London, 2007.

SOUZA JÚNIOR, M. T.; SANTOS, C. M. R.; MARTINS, N. F.; et al. **DATAMusa**: banco de dados de genômica de Musa spp. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 24 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 107).

# Isolamento e Clonagem do Promotor Tecido-específico Completo e Transformação Genética de *Musa spp.*

*Joane Marília Santana dos Santos<sup>1</sup>; Leandro Eugenio Cardamone Diniz<sup>2</sup>*

## Resumo

Bananeira é uma espécie pertencente à família Musaceae típica de regiões tropicais e subtropicais, que apresenta grande importância econômica e social no mundo, uma vez que constitui fonte de renda e alimento para milhões de pessoas, embora o seu cultivo seja afetado por diversos problemas causados por fungos, bactérias, vírus, nematóides e insetos, além de estresses abióticos. Uma das estratégias para a solução dos principais problemas é a obtenção de novas variedades resistentes a doenças, nematóides e insetos mediante programas de melhoramento. As pragas e doenças são responsáveis por severas perdas na produção de banana, que, a depender dos fatores envolvidos, pode ser de até 100%, uma vez que, em muitos casos, não existe nenhuma alternativa de controle. O promotor é uma região reguladora do DNA localizada upstream da sequência codante do gene, sendo constituído por sequências de nucleotídeos que funcionam como ponto de reconhecimento para a ligação da RNA polimerase, conferindo assim, um ponto de controle para a transcrição regulada do gene. Em eucariotos, o início da transcrição depende da ligação ao promotor de um conjunto de proteínas designadas fatores de transcrição. Estes fatores se ligam às sequências promotoras, recrutando a RNA polimerase, a enzima que sintetiza o RNA a partir da região codante do gene. Como os promotores tipicamente são imediatamente adjacentes ao gene em questão, a posição dos promotores é designada relativamente ao sítio de início da transcrição, onde a transcrição do RNA começa por um gene em particular, ou seja, posições upstream são números negativos iniciando a contagem pelo -1, por exemplo, -100 é a posição 100 pares de bases upstream. Com isso, os objetivos deste trabalho foram isolar e clonar uma região promotora de expressão gênica de caráter tecido-específico (folha) completo (full-promoter) e iniciar o processo de validação deste promotor através da transformação genética de uma região promotora de expressão gênica em *Musa spp.*

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Tiradentes, Aracaju, SE.

<sup>2</sup> Biólogo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, leandro.diniz@embrapa.br.



**Palavras-chave:** banana, promotor, tecido-específico, transformação.

## Introdução

A banana (*Musa spp.*) é uma espécie cultivada em mais de 100 países tropicais e subtropicais. Esta fruteira é o alimento básico na dieta de mais de 400 milhões de pessoas, possuindo um importante papel social e econômico nos países produtores. A banana é uma cultura bastante versátil, capaz de ser cultivada em diferentes ambientes, o que a torna interessante para produção por pequenos produtores, produz o ano todo e é mantenedora da fertilidade do solo. No aspecto nutricional, a banana é uma importante cultura de segurança alimentar, sendo considerada uma rica fonte de energia, sais minerais e vitaminas.

A produção anual mundial ultrapassa 100 milhões de toneladas, sendo que praticamente 87% da área cultivada em todo o mundo é feita por pequenos produtores para consumo doméstico ou para venda em mercados locais e regionais. Os 13% restante da produção mundial de banana destina-se ao mercado exportador e esta sob o domínio de grandes multinacionais americanas. Para muitos países, sobretudo os da América Latina e do Caribe, a exportação de banana constitui uma importante fonte de divisas estrangeiras.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de bananas, tendo produzido 6,8 milhões de toneladas (9,3% da produção mundial) no ano 2005, em uma área de 499.230 hectares (FAO, 2007). A bananeira é cultivada de Norte a Sul do País, sendo fundamental para a complementação da dieta alimentar das populações de baixa renda. Praticamente toda fruta produzida é comercializada no mercado interno. A maioria dos bananicultores é composta por pequenos produtores, e o setor da bananicultura no Brasil gera mais de 500 mil empregos diretos. As regiões Nordeste e Sudeste do Brasil, juntas, respondem por 67% da produção nacional. O consumo efetivo de frutos situa-se na faixa de 70% da produção total, visto que embora as quantidades exportadas sejam mínimas, as perdas pós-colheita chegam a 30% da produção. Em 2002, os Estados maiores produtores foram: São Paulo (1.178.140 toneladas), Bahia (975.620 toneladas), Pará (537.900 toneladas), Santa Catarina (668.003 toneladas) e Minas Gerais (550.503 toneladas) (IBGE-SIDRA, 2007).

Bananeira é uma espécie pertencente à família Musaceae típica de regiões tropicais e subtropicais, que apresenta grande importância econômica e social no mundo, uma vez que constitui fonte de renda e alimento para milhões de pessoas, embora o seu cultivo seja afetado por diversos problemas causados por fungos, bactérias, vírus, nematóides e insetos, além de estresses abióticos (Ribeiro, 2011). Uma das estratégias para a solução dos principais problemas é a obtenção de novas variedades resistentes a doenças, nematóides e insetos mediante programas de melhoramento (SILVA et al., 2003).

O cultivo comercial de banana demanda, no seu contexto global, um amplo uso de pesticidas, levando a uma constante ameaça ao meio ambiente e à saúde humana nos países produtores pobres e à viabilidade econômica das indústrias. Somente um patógeno, o fungo *M. fijiensis* exige em alguns países da América Latina entre 50-60 aplicações anual de fungicida. A importância do controle genético desse patógeno é de caráter urgente, já que a produção da banana em nível mundial vem passando por uma série de análises públicas de caráter crítico que demandam segurança alimentar e ambiental, dentro de um contexto de sustentabilidade da cultura.

O promotor é uma região reguladora do DNA localizada upstream da sequência codante do gene, sendo constituído por sequências de nucleotídeos que funcionam como ponto de reconhecimento para a ligação da RNA polimerase, conferindo assim, um ponto de controle para a transcrição regulada do gene. Em eucariotos, o início da transcrição depende da ligação ao promotor de um conjunto de proteínas designadas fatores de transcrição. Estes fatores se ligam às sequências promotoras, recrutando a RNA polimerase, a enzima que sintetiza o RNA a partir da região codante do gene (REMY et al., 2005). Como os promotores tipicamente são imediatamente adjacentes ao gene em questão, a posição dos promotores é designada relativamente ao sítio de início da transcrição, onde a transcrição do RNA começa por um gene em particular, ou seja, posições upstream são números negativos iniciando a contagem pelo -1, por exemplo, -100 é a posição 100 pares de bases upstream (SANTOS et al., 2007). Com isso, os objetivos deste trabalho foram isolar e clonar uma região promotora de expressão gênica de caráter tecido-específico (folha) completo (full-promoter) e iniciar o processo de validação deste promotor através da transformação genética de uma região promotora de expressão gênica em *Musa* spp.

## Material e Métodos

Uma sequência potencialmente promotora de expressão gênica de caráter tecido-específico foi selecionado no genoma da bananeira para clonagem e transformação genética de suspensão celular de uma variedade de bananeira, em sua versão completa (sem deleção, na versão de 2 kb). Para isso foram utilizados:

- i) isolamento, clonagem e transformação genética de suspensão celular embriogênica de banana via *Agrobacterium* utilizando uma região promotora (versão completa) de expressão gênica em *Musa* spp; ii) isolamento da região promotora (versão completa) de expressão gênica em *Musa* spp. de caráter tecido-específica.

Os clones de BAC contendo o gene selecionado (associado ao promotor de interesse) foram obtidas no Global Musa Genomics Consortium (GMGC - <http://www.musagenomics.org/>). Para o isolamento do DNA plasmidial contendo o inserto onde se encontra o gene foi preparado 5 ml de meio LB líquido (contendo 12,5 µg/mL de cloranfenicol) e em seguida inoculado no meio líquido parte do meio de cultura estoque (stab culture) utilizando ponteira estéril; em seguida este meio líquido foi mantido sob agitação (220 rpm) a 37°C por 16 horas. Após crescimento das bactérias foram preparadas duas alíquotas de 1 ml contendo 25% de glicerol e mantidas a -80°C e os demais 3 ml foram utilizados para extração de DNA utilizando o kit Large-Construct (QIAGEN), segundo as recomendações do fabricante. Este DNA extraído foi quantificado e padronizado a 50 ng/µl. Amplicons contendo as sequências dos promotores foram obtidos mediante uso do kit ProofStart PCR (QIAGEN), e as condições de amplificação foram adaptadas à sequência do promotor a ser isolado, segundo recomendações do fabricante.

### 1.2. Clonagem da região promotora isolada em pDRIVE e pCAMBIA1319z.

Estes amplicons foram submetidos ao kit A-adding (QIAGEN), e depois inseridos no vetor T/A pDRIVE (QIAGEN). Depois de inseridos no vetor pDRIVE, estes foram utilizados para transformar células competentes de *E. coli* XL1-Blue (Stratagene). O DNA plasmidial contendo o amplicon foi isolado das células bacterianas utilizando o kit QIAprep spin mini-prep (QIAGEN), e submetidos a digestão com enzimas de restrição para estimativa/confirmação do tamanho do inserto. Estes clones foram então submetidos à sequenciamento para confirmação da identidade dos insertos. Em havendo a confirmação da identidade dos insertos, os mesmos seriam transferidos para o vetor pCAMBIA1319z.

Este vetor apresenta uma versão sem promotor do gene *gusA* (N358Q), com o íntron do gene da catalase imediatamente “downstream” a uma sequência truncada de *lacZa* contendo o sítio múltiplo de clonagem dos vetores pUC8 ou pUC9. O vetor pCAMBIA1391z apresenta o gene de resistência a higromicina como gene marcador de resistência para seleção de plantas, e o gene de resistência a kanamicina como gene marcador de resistência para seleção de bactéria transformada. O *lacZa* truncado é funcional para discriminação entre colônias azuis e brancas de estirpes de *E. coli*. Após esta confirmação, os promotores clonados seriam utilizados para transformação de células em suspensão de bananeiras de duas variedades disponibilizadas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF).

## Resultados e Discussão

Após o recebimento dos clones BAC pelo Global Musa Genomics Consortium (GMGC) procedemos ao processo de extração de DNA destas bactérias a fim de isolarmos os fragmentos de DNA que tínhamos o interesse em trabalhar para a obtenção das sequências de DNA dos promotores de interesse. No entanto, em um primeiro momento para nenhum dos clones BAC recebidos foi possível proceder a extração do DNA. As bactérias não cresciam no meio LB com cloranfenicol. Alternativamente tentamos crescer as bactérias em meio 2YT contendo também o antibiótico. Novamente sem sucesso.

Após 3 meses de tentativa solicitamos novamente ao GMGC novas bactérias para serem enviadas o que foi feito somente no mês de maio deste ano. Após este grande atraso conseguimos proceder a extração do DNA dos clones BAC para isolamento da sequência promotora de interesse. Uma vez feita a extração fizemos a digestão com enzimas de restrição para liberação do fragmento e confirmação do tamanho do fragmento esperado, sendo confirmado em gel de agarose.

Após esta confirmação procedeu-se a clonagem da região promotora utilizando os vetores pDRIVE e pCAMBIA1319z, nesta etapa novo atraso devido a ineficiência dos vetores, que já estavam armazenados a muito tempo. Mesmo assim, após 5 tentativas foi possível a seleção dos clones para serem utilizados na transformação. Para a utilização dos clones selecionados foram feitos sequenciamentos de todos os clones selecionados (cerca de 60), os quais só foram sequenciados no início de julho, o que infelizmente não possibilitou a conclusão desta etapa por

ainda não ter sido enviado. Após esta etapa, serão feitas as etapas de transformação das suspensões celulares e seleção dos transformantes utilizando antibióticos seletores nos meios de cultura.

## Conclusões

Os promotores de caráter tecido-específico foram com muito atraso selecionados e isolados, no entanto, para que a etapa de transformação das suspensões celulares seja finalizada precisamos dos dados de sequenciamento. As células em suspensão de banana já estão prontas para serem transformadas.

## Referências

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças da bananeira. In: FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P (Ed.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológica, , 2003. P. 687.

FAO. 2007. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em 13 setembro 2013.

IBGE-SIDRA. 2007. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/>>. Acesso em 13 setembro 2013.

REMY, S.; THIRY, E.; COEMANS, B.; WINDELINCKX, S.; SWENNEN, R.; SÁGI, L. Improved T-DNA vector for tagging plant promoters via high-throughput luciferase screening. **BioTechniques**, Notick, v. 38, n. 5, p. 763-770, 2005.

SANTOS, E.; REMY, S.; THIRY, E.; WINDELINCKX, S.; SWENNEN, R.; SÁGI, L. Characterization and isolation of a T-DNA tagged banana promoter active during in vitro regeneration and low temperature stress. **Journal of Experimental Botany**, London, 2007.

SOUZA JÚNIOR, M. T.; SANTOS, C. M. R.; MARTINS, N. F.; et al. **DATAMusa**: banco de dados de genômica de Musa spp. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 24 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 107).

# Monitoramento da Incidência de Enfezamentos Causados por Molicutes e de Cigarrinhas na Cultura de Milho no Estado de Sergipe

**Jessica Marcy Silva Melo Santo<sup>1</sup>; Viviane Talamini<sup>2</sup>; Elizabeth de Oliveira Sabato<sup>3</sup>; Frederico Alberto de Oliveira<sup>4</sup>; Carlos Carneiro Dos Santos<sup>5</sup>**

## Resumo

Enfezamento-pálido e enfezamento-vermelho são doenças causadas em milho por molicutes (espiroplasma e fitoplasma), organismos sem parede celular, com apenas uma membrana envolvendo o citoplasma e são encontrados restritos ao floema de plantas doentes, causando sintomas como clorose nas margens das folhas do cartucho, avermelhamento das folhas mais velhas, redução no tamanho da planta e proliferação de espigas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a incidência de enfezamentos e da cigarrinha *Dalbulus maidis*, vetora dos molicutes, na cultura do milho em Sergipe. Para tanto, foram realizadas análises das plantas por inspeção visual e coleta de insetos com rede entomológica em lavouras localizadas nos principais municípios produtores de milho de Sergipe. Plantas com sintomas típicos dos enfezamentos foram analisadas por meio do PCR multiplex para detecção simultânea de fitoplasma e espiroplasma. A espécie de cigarrinha *D. maidis* foi coletada no município de Simão Dias e plantas com enfezamento-vermelho foram detectados em lavoura localizada no mesmo município. Este é o primeiro relato da ocorrência do enfezamento-vermelho em Sergipe.

**Palavras-chave:** cigarrinha, *Dalbulus maidis*, enfezamento-vermelho, molicutes.

<sup>1</sup> Graduanda de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal de Sergipe, bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marcymeloo@hotmail.com.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, viviane.talamini@embrapa.br.

<sup>3</sup> Pesquisadora em Fitopatologia da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, elizabeth.o.sabato@embrapa.br.

<sup>4</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Faculdade AGES, Paripiranga, BA, fredericoalberto@yahoo.com.

<sup>5</sup> Graduando de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Sergipe, bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, carloscsantos@bol.com.br.

## Introdução

A determinação das causas de baixa produtividade do milho no Nordeste é essencial para permitir que sejam adotadas práticas de manejo que possam contribuir para aumentar a produtividade desse cereal na região. Dentre os diversos fatores que podem afetar a produtividade do milho incluem-se as doenças, como o enfezamento-pálido causado pelo Corn Stunt Spiroplasma (espiroplasma) e enfezamento-vermelho causado pelo Maize Bushy Stunt Phytoplasma, (fitoplasma) classificados como molicutes, cujos agentes causais são disseminados por insetos vetores.

Os molicutes são transmitidos de forma persistente propagativa pela cigarrinha *Dalbulus maidis* e esse inseto-vetor têm ampla ocorrência nas lavouras de milho das regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste (OLIVEIRA et al., 2003). Em geral, a maior incidência dos enfezamentos tem sido detectada em plantios tardios e em plantios de safrinha, sendo explicada pelas sobreposições dos ciclos da cultura e por condições climáticas favoráveis à proliferação do vetor e ao desenvolvimento da doença (OLIVEIRA et al., 2003).

Contudo, há carência de informações sobre a ocorrência desses insetos vetores, bem como dos enfezamentos em milho na Região Nordeste, onde essa cultura tem se tornado cada vez mais expressiva. Neste trabalho pretende-se avaliar a incidência de enfezamentos e a ocorrência de *D. maidis* na cultura do milho no Estado de Sergipe.

## Material e Métodos

Para avaliação da incidência de plantas de milho com sintomas de enfezamentos e da ocorrência de cigarrinhas foi feita a determinação dos principais municípios produtores de milho de Sergipe. A primeira avaliação foi feita cerca de 30 dias após a semeadura do milho e em um segundo período as avaliações foram feitas quando as plantas estavam em estágio reprodutivo, cerca de 65 dias após o plantio. As amostragens das plantas foram feitas por inspeção visual das plantas em três pontos ao acaso da lavoura por meio de caminharmento em três fileiras de milho com pelo menos trinta plantas cada.

Amostras de folhas com sintomas de enfezamentos foram coletadas, preservadas em caixas térmicas com gelo, em campo e em freezer, em laboratório, e utilizadas nas análises para detecção de molicutes. A detecção dos molicutes nas plantas

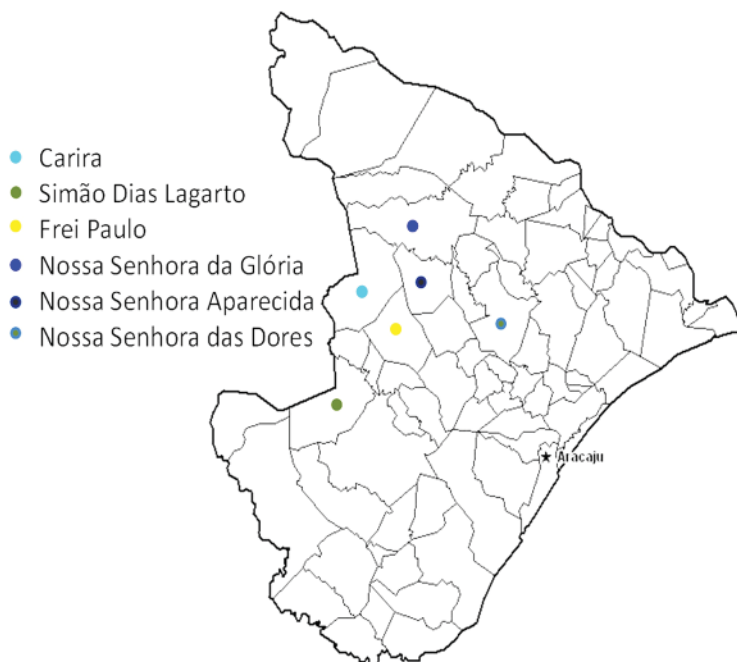
com sintomas foi feita através de teste de PCR. Para tanto a extração do DNA foi conduzida segundo protocolo de Saghai-Marooof et al. (1984) modificado e a detecção de espiroplasma e de fitoplasma foi feita utilizando-se respectivamente, os seguintes pares de oligonucleotídeos: CSSF2: 5'- GGC AAA AGA TGT AAC AAA AGT-3' e CSSR6: 5'-GTT ACT TCA ACA GTA GTT GCG- 3' (BARROS et al., 2001); e R16F2: 5'-ACG ACT GCT GCT AAG ACT GG-3' e R16R2: 5'-TGA CGG GCG GTG TGT ACA AAC CCC G-3' Lee et al. (1993). Foram utilizadas as condições de reação descritas por Lee et al. (1993) em PCR multiplex.

Para coleta das cigarrinhas, em cada lavoura foram amostrados três pontos tomados ao acaso, para composição de uma amostra. A coleta em cada um desses pontos foi feita através de 30 movimentos da rede entomológica entre fileiras de plantas de milho, em um espaço de cerca de 10m. Os insetos coletados foram colocados em sacos de plástico, armazenados em caixa térmica, com gelo, e posteriormente colocados por cerca de 20 minutos em freezer. Esses insetos foram transferidos para frascos de vidro contendo álcool 70%. Sob microscópio estereoscópico, as cigarrinhas foram contadas, separadas e preservadas em álcool 70%.

## Resultados e Discussão

A avaliação da incidência de mollicutes e de cigarrinhas *Dalbulus maidis* em áreas de plantio de milho na safra 2012 em Sergipe foi realizada em lavouras localizadas nos seguintes municípios: Carira, Simão Dias, Lagarto, Frei Paulo, Nossa Senhora da Glória, Nossa Senhora Aparecida e Nossa Senhora das Dores (Figura 1). Em cada município em média sete lavouras foram avaliadas.





**Figura 1.** Mapa do Estado de Sergipe com marcação dos municípios nos quais foram realizadas inspeções e coletas para detecção de cigarrinhas *Dalbulus maidis* e de sintomas de enfezamentos causados por mollicutes na cultura do milho.

No primeiro monitoramento que teve início em agosto de 2012, as lavouras estavam em estágio vegetativo de desenvolvimento. Mesmo sendo esta fase a ideal para captura de cigarrinhas com a rede entomológica a espécie *D. maidis* somente foi detectada no município de Simão Dias.

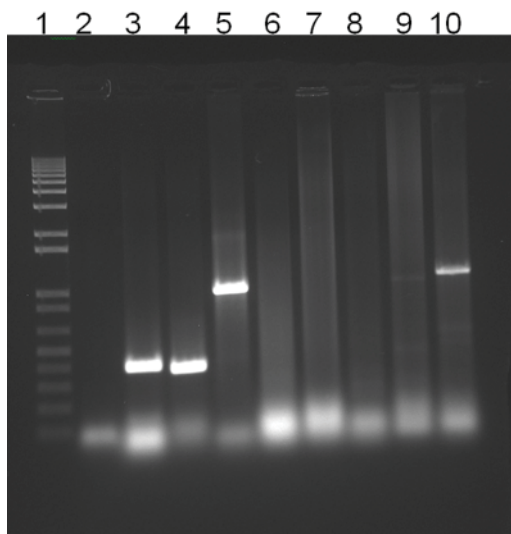
Em um segundo período de monitoramento quando as plantas já estavam em estágio reprodutivo foram realizadas novas visitas às mesmas lavouras amostradas no primeiro momento. Quando as plantas estão em estágio reprodutivo os sintomas de enfezamentos são mais facilmente visualizados. Nestas visitas foram coletadas folhas e espigas com sintomas suspeitos de enfezamentos (Figura 2), somente em uma lavoura localizada no povoado Lagoa Seca no município de Simão Dias. Neste local 100% das plantas avaliadas apresentaram sintomas do enfezamento-vermelho. Pela análise de PCR foi possível detectar a presença do fitoplasma nas amostras analisadas provenientes deste local (Figura 3). O monitoramento desta doença e de seu vetor (*D. maidis*) é fundamental para

prever danos à cultura do milho em plantios futuros, principalmente devido a grande importância desta cultura para o Estado de Sergipe.



Viviane Talamini

**Figura 2.** Sintomas do enfezamento-vermelho em folhas e em espigas de milho em plantio localizado em Simão Dias - SE.



**Figura 3.** Resultado do PCR multiplex para detecção simultânea de espiroplasma e de fitoplasma em amostras de folhas e espigas de milho coletadas em Simão Dias, SE. 1- Marcador 1 Kb; 2- Controle negativo; 3- Planta Espiroplasma; 4- Controle Espiroplasma; 5- Controle Fitoplasma; 6- Folha 1; 7- Folha 2; 8- Folha 3; 9- Espiga grande; 10- Espiga pequena.

## Conclusões

O fitoplasma causador do enfezamento-vermelho, bem como a cigarrinha *D. maidis* foram detectados em plantio de milho em Sergipe.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa, à Embrapa Tabuleiros Costeiros e à Embrapa Milho e Sorgo pela estrutura laboratorial e transporte para as viagens, à Emdagro que nos indicou os principais municípios com produção de milho e aos agricultores de Sergipe que permitiram que suas lavouras fossem avaliadas.

## Referências

BARROS, T. S. L.; DAVIS, R. E.; RESENDE, R. O. Design of a polymerase chain reaction for specific detection of corn stunt spiroplasma, *Spiroplasma kunkelii*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 85, p. 475-480, 2001.

LEE, I. M.; HAMMONS, R. W.; DAVIS, R. E.; GUNDERSEN, D. E. Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma-like organisms. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, n. 8, p. 834-842, 1993.

OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M.; SOUZA, I. R. P.; MAGALHÃES, P. C.; CRUZ, I. Enfezamentos em milho: expressão de sintomas foliares, detecção dos molicutes e interações com genótipos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 53-62, 2002.

OLIVEIRA, E.; RESENDE, R. O.; GIMÉNEZ PECCI, M. L. P.; LAGUNA, I. G.; HERRERA, P.; CRUZ, I. Ocorrência e perdas causadas por molicutes e vírus na cultura do milho safrinha no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 1, p. 19-25, jan. 2003.

SAGHAI MAROOF, M. A.; SOLIMAN, K. M.; JORGENSEN, R. A.; ALLARD, R. W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley, Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Science**, Washington, v. 81, p. 8014- 8018, 1984.

# Estudo da Epidemiologia da Resinose do Coqueiro em Sergipe

**Carlos Carneiro dos Santos<sup>1</sup>; Viviane Talamini<sup>2</sup>; Joana Maria Santos Ferreira<sup>3</sup>; Frederico Alberto de Oliveira<sup>4</sup>; Jessica Marcy Silva Melo Santos<sup>5</sup>; Francisco José dos Santos<sup>6</sup>**

## Resumo

A resinose do coqueiro cujo agente etiológico é o fungo *Thielaviopsis paradoxa*, é uma importante doença que causa prejuízos à cultura do coqueiro no Brasil e em Sergipe. Ainda não existem no Brasil, estudos epidemiológicos que forneça um melhor entendimento desta doença. O objetivo do presente estudo foi avaliar o progresso espacial e temporal da resinose em área de produção de coco, correlacionar o progresso temporal da resinose com variáveis ambientais da região de estudo. A resinose foi monitorada em três setores com 400 plantas cada, onde todas as plantas foram avaliadas. Foi quantificada a incidência da doença, mensalmente observando-se a presença da exsudação da seiva no estipe da planta. A partir das avaliações foi criada uma malha da distribuição das plantas onde foram marcadas as plantas doentes encontradas em cada avaliação. As curvas de progresso foram plotadas, utilizando-se os valores de incidência em relação ao tempo. Os dados da incidência da doença foram analisados por meio da análise de regressão linear simples. As análises permitiram verificar o progresso linear da resinose com relação ao tempo e pela análise da estrutura de focos indicou falta de agregação de plantas doentes nos focos avaliados.

**Palavras-chave:** Análise espacial, análise temporal, epidemiologia, resinose, *Thielaviopsis paradoxa*.

<sup>1</sup> Graduando de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Sergipe, bolsista CNPq/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, carloscsantos@bol.com.br.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, viviane.talamini@embrapa.br.

<sup>3</sup> Engenheira-agrônoma, mestre em Entomologia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, joana.ferreira@embrapa.br.

<sup>4</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Faculdade AGES, Paripiranga, BA, fredericoalberto@yahoo.com.

<sup>5</sup> Graduanda de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe, bolsista CNPq/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marcymeloo@hotmail.com.

<sup>6</sup> Analista do Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, francisco.santos@embrapa.br.

## Introdução

A resinose do coqueiro cujo agente etiológico é o fungo *Thielaviopsis paradoxa* (anamorfo do ascomiceto *Ceratocystis paradoxa*) é uma importante doença que causa prejuízos à cultura do coqueiro no Brasil e em Sergipe. As plantas infectadas apresentam exsudação de seiva de cor marrom avermelhada que escorre por fissuras no estipe, na região interna do estipe verificam-se extensas lesões amarronzadas e nas raízes ocorrem lesões necróticas prejudicando a absorção e/ou translocação de água e nutrientes do solo até as folhas. No Brasil os primeiros relatos de sua ocorrência surgiram em 2004 e desde então, a doença tem se disseminado gradualmente aumentando o número de propriedades e de coqueiros infectados a cada ano (WARWICK et al., 2004).

Ainda não existem no Brasil, estudos epidemiológicos desta doença para melhor entendimento do patossistema em questão. O conhecimento da epidemiologia permite o estabelecimento de padrões espacial e temporal de determinada doença. O padrão espacial, caracterizado pela distribuição de plantas doentes, umas em relação às outras, fornece dados que podem ser utilizados para auxiliar o esclarecimento da etiologia e do papel dos agentes de disseminação da doença, como os vetores, o vento e a chuva. A análise do arranjo espacial também tem possibilitado o entendimento da dinâmica de epidemias com relação ao padrão do inóculo inicial, o efeito de práticas biológicas e culturais, e o efeito de fatores ambientais na incidência e severidade da doença no campo (JEGER, 1990). A análise temporal permite a construção das curvas de progresso de doenças, a melhor representação de uma epidemia. Interpretar o formato dessas curvas e determinar seus componentes, como quantidade inicial, máxima e final da doença, taxa de progresso, bem como a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), são fundamentais para se efetuar o manejo de epidemias (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Desta forma objetiva-se com o presente estudo avaliar o progresso espacial e temporal da resinose em área de produção de coco localizada no Estado de Sergipe e correlacionar o progresso temporal da resinose com variáveis ambientais da região de estudo.

## Material e Métodos

O experimento para estudo da epidemiologia da resinose do coqueiro em Sergipe foi conduzido em propriedade comercial localizada no perímetro irrigado do Platô de Neópolis (Neópolis/ SE). A área de plantio é de 120 ha, dividida em quatro blocos e 13 talhões, com irrigação por micro-aspersão. A variedade é a anão verde, plantada no sistema de plantio em triângulo equilátero (7,5m de aresta) contando hoje com 14 anos de idade.

O perímetro irrigado do Platô de Neópolis apresenta clima tropical chuvoso com verão seco, onde a estação chuvosa se adianta para o outono, antes do inverno (abril a julho). A temperatura média anual é de 25,6°C, com precipitação média anual de 1.181mm. Este local foi escolhido por apresentar vários focos da doença e por retratar a realidade da resinose na região, permitindo estudos da epidemiologia.

A resinose foi monitorada em três setores com 400 plantas cada, onde todas as plantas foram avaliadas. Foi quantificada a incidência da doença, mensalmente observando-se a presença da exsudação de resina no estipe da planta. Os dados foram coletados de setembro de 2012 a junho de 2013, sendo a avaliação inicial no tempo zero e a última avaliação 270 dias após a primeira.

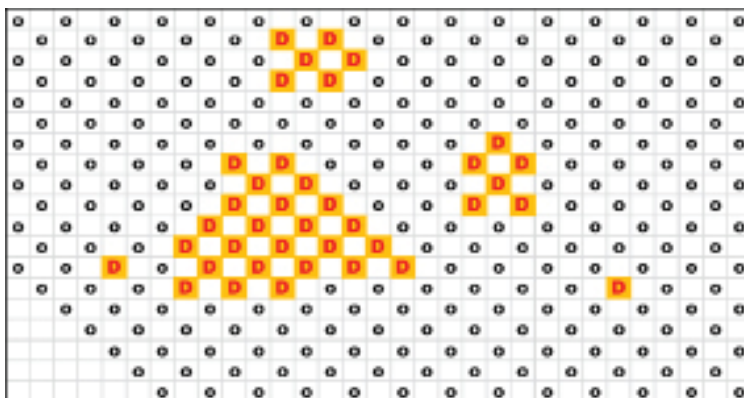
A partir das avaliações foi criada uma malha da distribuição das plantas onde foram marcadas as plantas doentes encontradas em cada avaliação. As curvas de progresso foram plotadas, utilizando-se os valores de incidência em relação ao tempo. Os dados da incidência da doença foram analisados por meio da análise de regressão linear simples. Foi feita a análise de correlação Pearson ( $P \leq 0,05$ ) entre o progresso da incidência da resinose e as variáveis ambientais (temperatura mínima, média e máxima; umidade relativa do ar; precipitação e velocidade e direção do vento), considerando intervalos de 30 dias antes da avaliação da doença. As variáveis ambientais foram coletadas de estações climatológicas localizadas o mais próximo possível do experimento.

A análise da estrutura de focos (ADEF), foi feita usando a metodologia empregada por Nelson (1996) e Laranjeira et al. (1998), considerando somente as plantas com sintomas de resinose imediatamente adjacentes no padrão de proximidade vertical, horizontal ou diagonal como pertencentes ao mesmo foco. Os focos unitários são aqueles compostos por apenas uma única planta afetada. Em todas as avaliações serão determinados: o número de focos (NF), o número de plantas

em cada foco (NPF) e o número máximo de linhas (LF) e colunas (LC) ocupadas por cada foco. A partir dessas informações, também foi calculada, conforme Nelson (1996) e Laranjeira et al. (1998), o número médio de plantas por foco (NPF); o índice médio de forma de focos IFF, onde  $IFF = LF/LC$  e o índice médio de compactação de focos ICF, onde  $ICF = NPF / (LC * LF)$ . Valores de IFF iguais a 1,0 indicam focos isodiamétricos, valores maiores que 1,0 indicam focos com maior comprimento na direção entre as linhas de plantio, e valores menores que 1,0 indicam focos com maior comprimento na direção da linha de plantio. Valores de ICF próximos a 1,0 indicam focos mais compactos, isto é, maior agregação e proximidade entre todas as plantas pertencentes ao foco (NELSON, 1996).

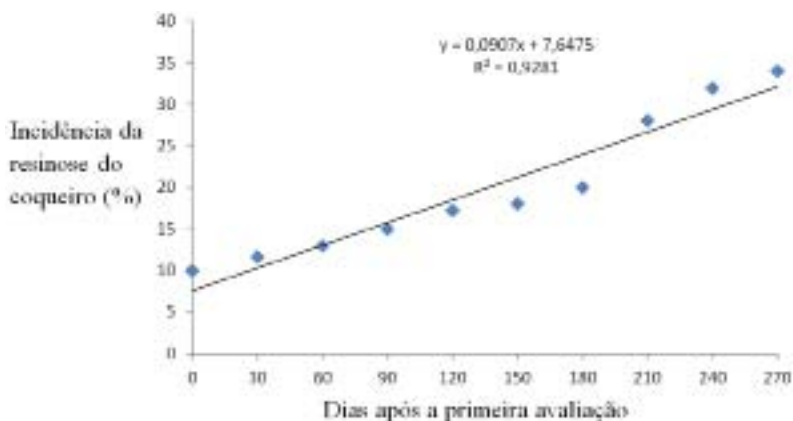
## Resultados e Discussão

As áreas a serem monitoradas foram selecionadas e mapeadas, evidenciando-se as plantas saudáveis e focos da doença (plantas com sintomas da resinose). A confecção dos mapas (Figura 1) permitiu analisar o progresso espaço-temporal da doença.



**Figura 1.** Exemplo de mapa para marcação das plantas doentes (D) e Saudáveis (O) para visualização dos focos e determinação da incidência da resinose em coqueiro anão verde. Platô de Neópolis-SE, 2012-2013.

A incidência da resinose foi plotada em função do tempo para permitir a análise temporal do progresso da doença. A incidência da doença no início das avaliações foi de 10% e ao final de 270 dias após a primeira avaliação alcançou o valor de 34 %. O modelo que apresentou ajuste satisfatório aos dados da incidência da resinose foi o linear (Figura 2).



**Figura 2.** Curva de progresso da resinose e ajuste do modelo linear. Valores cumulativos da incidência da resinose do coqueiro no período de 10 meses (setembro de 2012 a junho de 2013). Platô de Neópolis-SE.

Neste estudo e para o período avaliado não foi observada correlação significativa da incidência da resinose com as variáveis ambientais.

Com relação a análise da distribuição e estrutura de focos predominaram valores de IFF em torno de 1,0 indicando maior disseminação das plantas doentes nas linhas. Os ICFs variaram entre 0,35 a 0,50 onde valores próximos a 1,0 indicam focos mais compactos ou agregados (Tabela 1). Neste caso a força de agregação não foi evidenciada. Carvalho et al., (2012) verificou agregação da doença em plantio de coqueiro localizado no Estado do Pará.



**Tabela 1.** Análise da estrutura de focos (AEF) da resinose do coqueiro, número máximo de linhas por foco (LF); número máximo de colunas por foco (LC); número de plantas por foco (NPF); índice de forma de foco (IFF); índice de compactação de foco (ICF).

Setores	Focos	LF	LC	NPF	IFF	ICF
A	I	3	4	6	0,75	0,5
A	II	1	1	1	1,00	1,00
A	III	4	3	6	1,33	0,5
A	IV	7	10	24	0,70	0,35
B	I	1	1	1	1,00	1,00
B	II	4	4	7	1,00	0,43
B	III	2	2	2	1,00	0,50
B	IV	10	12	47	0,83	0,40
C	I	4	12	19	0,33	0,39
C	II	4	5	10	0,80	0,50

O período de 12 meses de avaliação da resinose nos deu um indicativo do progresso da doença. As análises terão continuidade para a obtenção de resultados conclusivos.

## Conclusões

As análises permitiram verificar o progresso linear da resinose com relação ao tempo e pela análise da estrutura de focos verificou-se disseminação da doença nas linhas e falta de agregação de plantas doentes nos focos avaliados.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa, à Embrapa Tabuleiros Costeiros pela estrutura laboratorial e transporte para as viagens, e à Empresa HDantas que permitiu a avaliação da doença em sua propriedade.

## Referências

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons. 1990. 532p.

CARVALHO, E.A.; COSTA, R.C.; LINS, P.M.P.; NASCIMENTO, S.M.C. TALAMINI V. Distribuição espacial da resinose do coqueiro no Estado do Pará. **Tropical Plant Pathology**, v.37(Suplemento), ago., 2012.

JEGER, M.J. Mathematical analysis and modeling of spatial aspects of plant disease epidemics. In: KRANZ, J. (Ed) **Epidemics of plant diseases: mathematical analysis and modeling**. 2 ed. Heidelberg: Springer-Verlag. p. 53-95. 1990.

LARANJEIRA, F. F.; BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L. 1998. Dinâmica e estrutura de focos da clorose variegada dos citros (CVC). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, jan. p. 36-41.

NELSON, S. C. A simple analysis of disease foci. **Phytopathology**, Saint Paul, v.86, n.4, p. 332-339. 1996.

WARWICK, D. R.N.; FERREIRA, J.M.S.; PASSOS, E.E.M. Ocorrência de resinose do estipe do coqueiro provocada por *Chalara paradoxa* em Sergipe. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.29, n.4, p.413, 2004.

# Avaliação Preliminar de Acessos de Coqueiro-gigante em Duas Épocas

*Elían Suelen de Jesus Santos<sup>1</sup>; Alinne Oliveira Nunes<sup>2</sup>; Rejane do Couto Silva<sup>3</sup>; Ana Beatriz Costa Czermainski<sup>4</sup>; Semíramis Ramalho Rabelo Ramos<sup>5</sup>*

## Resumo

O objetivo desse trabalho foi avaliar o comportamento de dois acessos de coqueiro-gigante, denominados Gigante-do-Brasil da Terra do Rei (GBrTR) e Gigante-do-Brasil-Avenida (GBrAV), em dois anos, verificando a praticidade e aplicabilidade dos descritores propostos para avaliação dos acessos. A unidade experimental foi composta por 90 plantas, 30 em cada parcela, em três repetições. A avaliação foi feita utilizando os descritores altura da planta; circunferência do estipe; número de folhas vivas e mortas; largura, circunferência, espessura e comprimento do pecíolo; comprimento da folha e número, comprimento e largura do folíolo. A análise de variância foi realizada em esquema fatorial, segundo o modelo de blocos ao acaso. Constatou-se que, dentre os descritores avaliados, os acessos não apresentaram efeito significativo apenas para os descritores largura e espessura do pecíolo, comprimento de folha, comprimento do folíolo e número de folíolos. Os descritores selecionados mostraram-se eficientes na avaliação e diferenciação, contudo, considerando idade dos acessos é necessária a continuidade na tomada sequencial dos descritores em diferentes anos.

**Palavras-chave:** *Cocos nucifera* L., descritores, bancos de germoplasma, recursos genéticos.

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas, estagiária Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, deliansuelen@yahoo.com.

<sup>2</sup> Mestrando em Ciências Biológicas Bacharelado, bolsista do CNPQ/PIBIC, Aracaju, SE, alinnenunes@live.com.

<sup>3</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade XXXXXX, estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, rejane\_imk@hotmail.com.

<sup>4</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Estatística e Experimentação Agronômica, pesquisadora da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, ana.czermainski@embrapa.br.

<sup>5</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, semiramis.ramos@embrapa.br.

## Introdução

As populações de coqueiro-gigante (*Cocos nucifera* L.) fazem parte das áreas litorâneas nordestinas e na tentativa de resgate e conservação da variabilidade genética da espécie, desde a década de 80, a Embrapa Tabuleiros Costeiros desenvolve ações na área de recursos genéticos. O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) conserva atualmente 26 acessos de coqueiro, sendo 19 de coqueiro-gigante. O objetivo desse trabalho foi avaliar o comportamento de dois acessos de coqueiro-gigante, em dois anos, verificando a praticidade e aplicabilidade dos descritores propostos para avaliação dos acessos.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Campo Experimental de Itaporanga, pertencente à Embrapa Tabuleiros Costeiros. Foram avaliados os acessos Gigante-do-Brasil-Terra-do-Rei (GBrTR) e Gigante-do-Brasil-Avenida (GBrAv), os quais estão implantados no BAG desde 2009. A unidade experimental foi composta de 90 plantas úteis, com 30 plantas por parcela, em três repetições, no espaçamento de 8,5m x 8,5m x 8,5m, em triângulo equilátero. As avaliações foram realizadas em dois períodos, janeiro de 2012 e fevereiro de 2013, por meio da utilização de 12 descritores (IPGRI, 1995): altura da planta (ALT); circunferência do coleto (CC); número de folhas vivas (NFV), folhas emitidas (NFE) e mortas (NFM); comprimento (CP); largura (LP) e espessura do pecíolo (EP); comprimento (CF) e número de folhas (NFO), comprimento (CFO) e largura do folíolo (CFO). Foi utilizada a folha número 4 para a avaliação. A análise de variância foi realizada em esquema fatorial, segundo o modelo de blocos ao acaso. Todos os efeitos do modelo foram considerados aleatórios.

## Resultados e Discussão

Constatou-se que dentre os descritores avaliados, os acessos não apresentaram efeito significativo apenas para as características LP, EP, CF e NFO teste F de Fisher ( $P < 0,01$ ) (Tabela 1). Considerando os anos, não houve efeito significativo somente para o descritor comprimento do pecíolo (CP), mostrando assim que os descritores avaliados também apresentaram variação entre os anos (Tabela 1). Com relação à interação Tratamento x Ano, apenas os descritores comprimento

do pecíolo (CP) e número de folíolos (NFO) apresentaram efeito significativo a 5% e 1%, respectivamente. Com isso infere-se que as duas avaliações não são suficientes para distinguir um acesso do outro por meio destes descritores em poucos anos, o que pode ser justificado pelo fato de se tratar de uma cultura perene e de desenvolvimento vegetativo lento. Todos os coeficientes de variação encontram-se na faixa de alta precisão metodológica.

**Tabela 1.** Resumo da Análise de Variância para a análise conjunta dos anos considerando os descritores altura de planta (ALT); circunferência do coleto (CC); número de folhas vivas (NFV); comprimento (CP), largura (LP) e espessura do pecíolo (EP); comprimento da folha (CF); número (NFO), comprimento (CFO) e largura do folíolo (LFO) de dois acessos de coqueiro-gigante. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, 2013.

FV	GL	QM		
		ALT	CC	NFV
Blocos/ano	4	0.033	13.488	0.173
Blocos	2	0.051	9.003	0.303
Blocos x ano	2	0.016	17.973	0.043
Tratamento	1	0.241 **	53.341 **	0.521 **
Ano	1	3.521 **	2793.801 **	7.521 **
Trat x ano	1	0.021 ns	35.707 ns	0.067 ns
Resíduo	2	0.047	5.702	0.187
Média		2.842	69.840	8.958
CV (%)		7.605	3.419	4.823

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

FV	QM			
	CP	LP	EP	CF
Blocos/ano	14.309	0.093	0.027	52.292
Blocos	2.499	0.041		53.693
Blocos x ano	3.626		0.030	50.890
Tratamento	235.853 **	0.001 ns		9.541 ns
Ano	1180.083 ns	19.001 **	2.43 **	12774.096 **
Trat x ano	180.963 *	0.101 ns		1.386 ns
Resíduo	13.166	0.043		57.873
Média	96.400	3.658	2.367	106.192
CV (%)	3.764	5.691		7.164

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

FV	QM		
	NFO	CFO	LFO
Blocos/ano	14.309	0.093	0.027
Blocos	2.499	0.041	
Blocos x ano	3.626		0.030
Tratamento	235.853**	0.001 ns	
Ano	1180.083 ns	19.001**	2.43**
Trat x ano	180.963*	0.101 ns	
Resíduo	13.166	0.043	
Média	96.400	3.658	2.367
CV (%)	3.764	5.691	

\*\* - Teste F significativo a 1% de probabilidade; \* - Teste F significativo a 5% de probabilidade; ns - não significativo.

O acesso GBrTR apresentou os maiores valores médios para o descritor CC nos dois anos e um aumento de 31,34 cm ao ano. Já os valores médios para a característica ALT foram maiores para o acesso GBrTR, no primeiro ano e GBrAv no segundo ano, o que pode ser justificado pelo fato de que o GBrAv teve um crescimento anual de 31cm a mais que o GBrTR. Loiola (2005), avaliando comprimento do estipe de cultivares de coqueiro verificou um crescimento médio de 56 cm por ano para o coqueiro Gigante-do-brasil-da-Praia-do-Forte. Esses dados caracterizam que a planta está apresentando um bom desenvolvimento. Os valores médios de CP, CF, CFO e NFO foram maiores para o acesso GBrAv no ano de 2012, porém foi constatado um aumento anual maior para os descritores CP e NFO no GBrTR. Juntos, esses descritores fornecem uma estimativa da área foliar da planta e associando-as com o número de folhas vivas, pode-se obter aproximação do percentual de produção de fotoassimilados pela planta (JUCÁ et al., 2002).

As características comprimento do pecíolo, comprimento da folha e número de folíolos também são importantes para inferir sobre a densidade de plantio devendo apresentar-se largos e curtos para melhor suportar o peso dos cachos de frutos e até mesmo das próprias folhas (JUCÁ et al., 2002). Constatou-se que os valores para comprimento do folíolo foram maiores para o acesso GBrAv, porém ambos acessos apresentaram desempenho adequado nos dois anos, levando em consideração que os folíolos devem apresentar em média comprimento de 50 a 120cm e largura de 1,5 a 5 cm.

Ambos os acessos apresentaram maior valor médio para número de folhas emitidas no mês de julho/12, assim como menor valor médio para número de folhas mortas nesse mesmo período. Isso pode ser explicado pelo fato de que períodos de chuva provocam aumento no número de emissão de folhas e no seu tempo de vida. Logo, a taxa de emissão de folhas é maior nos meses chuvosos ao contrário da taxa de morte que diminui nesses períodos.

## Conclusões

Os acessos não apresentaram efeito significativo apenas para as características LP, EP, CF e NFO. Os descritores selecionados mostraram-se eficientes na avaliação do comportamento e na diferenciação dos dois acessos. Contudo, considerando idade dos acessos, é necessária a continuidade na tomada sequencial dos descritores em diferentes anos.

## Referências

IPGRI. **Descriptors for Coconut (*Cocos nucifera* L.)**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1995.

LOIOLA, C. M. **Seleção de cultivares de coqueiro com menor porte**. 2005. 22 f. Monografia - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2005.

JUCÁ, M. P.; GAÍVA, H. N.; PEREIRA W. E.; MILESKI, A. Comportamento vegetativo de cultivares de coqueiro-anão (*Cocos nucifera* L.), em Santo Antônio de Leverger - MT. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 24, n. 2, p.463-467, 2002.

# Caracterização Molecular de Acessos de Coqueiro-Gigante via Marcadores SSR

*Alinne Oliveira Nunes<sup>1</sup>; Semíramis Ramalho Rabelo Ramos<sup>2</sup>; Carina Mendes Loiola<sup>3</sup>; Leandro Eugênio Diniz<sup>4</sup>; Messias Gonzaga Pereira<sup>5</sup>; Carlos Diego de Oliveira Azevedo<sup>6</sup>; Pedro Henrique Araújo Diniz Santos<sup>7</sup>; Rejane do Couto Silva<sup>8</sup>; Elian Suelen de Jesus Santos<sup>9</sup>*

## Resumo

O O Brasil sedia o Banco Internacional de Germoplasma de Coco para a América Latina e Caribe (ICG-LAC), o qual é vinculado a Rede Internacional de Recursos Genéticos de Coco (COGENT). Diante da necessidade de inferir sobre a estrutura genética de alguns acessos de coqueiro, esse trabalho objetivou caracterizar acessos de coqueiro-gigante via marcadores moleculares microssatélites. Para tanto, os acessos foram submetidos a reações de polimerase em cadeia para cinco *primers* de SSR. Quatro *primers* foram analisados gerando 37 marcas polimórficas. Com base na análise preliminar das marcas obtidas, constatou-se que há variabilidade genética nos diferentes acessos analisados.

**Palavras-chave:** bancos de germoplasma, caracterização de germoplasma, *Cocos nucifera* L., marcadores moleculares, recursos genéticos.

<sup>1</sup> Mestrando em Ciências Biológicas Bacharelado, bolsista do CNPQ/PIBIC, Aracaju, SE, alinnenunes@live.com.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, semiramis.ramos@embrapa.br.

<sup>3</sup> Doutoranda, bolsista da CAPES, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, carina\_loiola@yahoo.com.br.

<sup>4</sup> Biólogo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, leandro.diniz@embrapa.br.

<sup>5</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, professor da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, messias@uenf.br.

<sup>6</sup> Mestrando em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Estadual do Norte Fluminense/Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Campos dos Goytacazes, RJ, carlosdiego\_oliveira@yahoo.com.br.

<sup>7</sup> Doutorando em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Estadual do Norte Fluminense/Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Campos dos Goytacazes, RJ, phsantos2004@yahoo.com.br.

<sup>8</sup> Graduanda em Ciências Biológicas, estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, rejane\_jmk@hotmail.com.

<sup>9</sup> Graduanda em Ciências Biológicas, estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, deliansuelen@yahoo.com.



## Introdução

Na Embrapa Tabuleiros Costeiros, os acessos de coqueiro-gigante foram introduzidos e coletados, respectivamente, do Banco Internacional de Coco da Costa do Marfim (ICG-AIO) e da costa nordestina do Brasil. As coletas foram realizadas em diversas épocas e seguindo diferentes estratégias amostrais. Diante dessa situação existe a necessidade de melhor entender e inferir sobre a estrutura genética de alguns acessos. Esse trabalho objetivou caracterizar e avaliar, por meio de marcadores moleculares microssatélites (SSR), acessos de coqueiro-gigante do Banco Ativo de Germoplasma de Coco, a fim de detectar o nível de polimorfismo existente dentro deles.

## Material e Métodos

Foram avaliados sete acessos de coqueiro-gigante-do-Brasil, sendo três deles provenientes do Campo Experimental de Betume (CEB) (GBrBF-CEB - Gigante-do-Brasil-Baía-Formosa, GBrPC-CEB-Gigante-do-Brasil-de-Pacatuba e GBrSR-CEB-Gigante-do-Brasil-Santa-Rita) e os outros quatro implantados no Campo Experimental de Itaporanga (GBrBF-CEI - Gigante-do-Brasil-Baía-Formosa, GBrOC-CEI -Gigante-do-Brasil-Olho-de-Cravo, GBrSR - Gigante-do-Brasil-Santa-Rita e GBrTR-CEI- Gigante-do-Brasil-Terra-do-Rei. A caracterização molecular foi constituída de quatro etapas as quais foram desenvolvidas em parceria entre a Embrapa Tabuleiros Costeiros e a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Para a extração do DNA foram coletados folíolos da folha número um, de todas as plantas de cada acesso, totalizando 264 amostras. O protocolo de extração de DNA foi o de Doyle e Doyle (1987), com algumas modificações. As reações de amplificação de DNA foram efetuadas conforme Baudouin (2009). Os produtos de PCR foram submetidos ao sistema de eletroforese capilar e para análise dos dados moleculares foi utilizado o programa POPGENE que proporcionou a estimativa de parâmetros como polimorfismo do loco, número de alelos, número de alelos efetivos, distância genética e Índice de Shannon (IS) e de Nei.

## Resultados e Discussão

Quatro dos cinco *primers* testados amplificaram e apresentaram marcas polimórficas para as 264 amostras individuais analisadas. A combinação dos quatro locos SSR gerou um total de 37 alelos, com uma média de 9.25 alelos por locos. Esse número mostrou-se superior ao número médio de alelos por locos encontrado em outros estudos de populações de coqueiro-gigante por meio de marcadores microsatélites, o que indica o alto nível de polimorfismo encontrado dentre os acessos. Ribeiro et al. (2010) obteve uma média de 5.2 alelos por locos num total de 68 alelos para 8 locos SSR e Dasanayaka et al. (2009) obteve uma média de 4.9 alelos por locos num total de 79 alelos gerados por 16 locos SSR.

Verificou-se que a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) na população variou de 0,49 a 0,86, com média de 0,72, enquanto que a heterozigose observada ( $H_o$ ) variou de 0,00 a 0,67, com média 0,26 (Tabela 1). Outros estudos com populações de coqueiro-gigante apresentaram valores superiores ao encontrado de heterozigosidade observada (0,26) como aquele realizado por Ribeiro et al. (2010) e Perera et al. (2001) que encontraram média de 0.682. Considerando todos os acessos analisados, verificou-se que os valores do IS variaram de 0,00 a 2,12. O valor médio de 1,57 revelou a existência de alta variabilidade dentro dos acessos avaliados (Tabela 1). O número de alelos encontrados para cada acesso variou de 2.25 (GBrOC-CEI) a 7.5 (GBrTR-CEI) alelos encontrados, com uma média 1.92 alelos efetivos para o GBrOC-CEI e uma média 4.39 alelos efetivos para o GBrTR. O IS apresentou maior valor médio para o acesso GBrTR (1.5) revelando a existência de alta variabilidade dentro desse acesso. O índice de diversidade genética de Nei também apresentou valor mais alto para a população GBrTR (0.71), entretanto todos os valores apresentados para os respectivos índices de diversidade apresentaram-se muito próximos uns dos outros.

**Tabela 1.** Diversidade Genética representada pelo Índice de Shannon, Heterozigose observada (Ho), esperada (He) e média (Hm) para todos os Locus estudados.

Locus	Índice de Shannon	Ho	He	Hm	Nei <sup>1</sup>
CnCir B6	2.12	0.28	0.86	0.65	0.86
CnCir C3'	1.73	0.67	0.78	0.61	0.77
CNZ44	1.66	0.10	0.76	0.68	0.75
CNZ01	0.00	0.00	0.49	0.49	0.49
Média	1.57	0.26	0.72	0.61	0.72

<sup>1</sup>Heterozigose esperada (Nei, 1973).

## Conclusão

Detectou-se alto nível de polimorfismo e diversidade genética dentro dos acessos de coqueiro-gigante. Conjunto maior de primers SSR serão utilizados visando ampliar a segurança das conclusões, além de permitir inferências mais precisas quanto à variabilidade genética intra populacional.

## Referências

BAUDOUIN L. **Consolidate microsatellite data on coconut diversity:** appendices. Montpellier: CIRAD, 2009.

DASANAYAKA, P. N.; EVERARD, J. M. D. T.; KARUNANAYAKA, E. H.; NANDADASA, G. Analysis of coconut (*Cocos nucifera* L.) diversity using microsatellite markers with emphasis on management and utilisation of genetic resources. **Journal of Natural Science Foundation**, Sri Lanka, v. 37, p. 99–109, 2009.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L.; HORTORIUM, L. H. B. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Gaithesburg, v. 12, p. 13-15, 1987.

RIBEIRO, F. E.; BAUDOUIN, L.; LEBRUN, P.; CHAVES, L. J.; BRONDANI, C.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R. Population structures of Brazilian tall coconut (*Cocos nucifera* L.) by microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 33, p. 696-702, 2010.

PERERA, L.; RUSSEL, J. R.; PROVAN, J.; POWEL, W. Level and distribution of genetic diversity of coconut (*Cocos nucifera* L. var. Typica form typical) from Sri Lanka assessed by microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 122, p. 381-389, 2001.

# Atributos Microbiológicos do Solo em Diferentes Densidades de Plantio da Gliricídia no Pomar Cítrico

***Maria José Bryanne Araujo Santos<sup>1</sup>; Thais de Jesus Santos<sup>2</sup>; Rafaela Moura Bezerra<sup>3</sup>; Yasmim Sotero Bomfim Fraga<sup>4</sup>; João Lima de Menezes Jr.<sup>5</sup>; Érika Teixeira dos Anjos Brandão<sup>6</sup>; Antonio Carlos Barreto<sup>7</sup>; Marcelo Ferreira Fernandes<sup>8</sup>***

## Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar o impacto de resíduos de gliricídia e ureia como fontes de N para citros sobre atributos microbiológicos do solo, em um segundo ano de ensaio. As amostras de solo foram coletadas de um pomar de citros implantado em Argissolo Amarelo no Campo Experimental de Umbaúba, SE, em 2011. No experimento foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições e cinco tratamentos: T1, sem N; T2, com adição de N como ureia; T3, T4 e T5: sem N e adição de resíduos de duas, cinco e oito plantas de gliricídia, por planta de laranja, respectivamente. As amostras de solo foram analisadas quanto à estrutura da comunidade microbiana (CM), respiração basal (RB), atividades de enzimas dos ciclos do C, P e S e o teor de glomalina no solo. Três CM distintas foram observadas: CM1 sob T1, CM2 sob T2 e CM3 sob T3, T4 e T5. Comparativamente à CM3, CM1 e CM2 foram menos enriquecidas em fungos saprófitos e em fungos micorrízicos arbusculares, respectivamente. Os tratamentos também diferiram quanto às funcionalidades microbianas. A adição de gliricídia promoveu as atividades de arilsulfatase, beta-glicosidase, fosfatase e os teores de glomalina, porém entre os níveis crescentes de gliricídia não foram observadas diferenças nestas atividades. A adição de ureia reduziu a RBS

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, bryanne-araujo@hotmail.com.

<sup>2</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>3</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>4</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>5</sup> Graduando em Agronomia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>6</sup> Biólogo, doutor em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>7</sup> Agrônomo, doutor em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>8</sup> Agrônomo, doutor em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marcelo.fernandes@embrapa.br.

em relação ao controle e a atividade de sacarase em relação aos tratamentos com gliricídia. Ao contrário da tendência observada para a maioria das enzimas, a atividade de xilanase foi estimulada pela adição de ureia. Diferentes fontes de N afetam a estrutura da CM e a funcionalidades da microbiota associadas em pomares de citros; estes resultados corroboram, em grande parte, os encontrados no primeiro ano de avaliação.

**Palavras-chave:** citros, *Gliricidia sepium*, qualidade do solo.

## Introdução

O uso de leguminosas dentro do pomar tem sido indicado como uma das alternativas para incrementar o aporte de resíduos vegetais ao solo (GANRY et al., 2001). Além disto, o plantio de leguminosas arbóreas nas entrelinhas de citros pode proporcionar uma considerável redução do uso de fertilizantes nitrogenados minerais por ser uma fonte permanente de nitrogênio, o que se reflete positivamente na diminuição de custos, além de proporcionar condições mais favoráveis do ponto de vista ambiental (ANJOS et al., 2004). Neste sentido, a gliricídia se constitui numa opção natural, pelo seu potencial produtivo e por ter demonstrado uma grande adaptabilidade à ecorregião de Tabuleiros Costeiros, que apresentam baixos teores de matéria orgânica e reduzida agregação (FERNANDES et al., 2011).

A avaliação do impacto do uso de técnicas agrícolas sobre a microbiota do solo é de grande relevância, visto que os micro-organismos são essenciais a processos e propriedades importantes para a qualidade do solo, como a ciclagem de nutrientes, o acúmulo de matéria orgânica e a estrutura do solo (BOSSUYT et al., 2001; SCHMIDT et al., 2007).

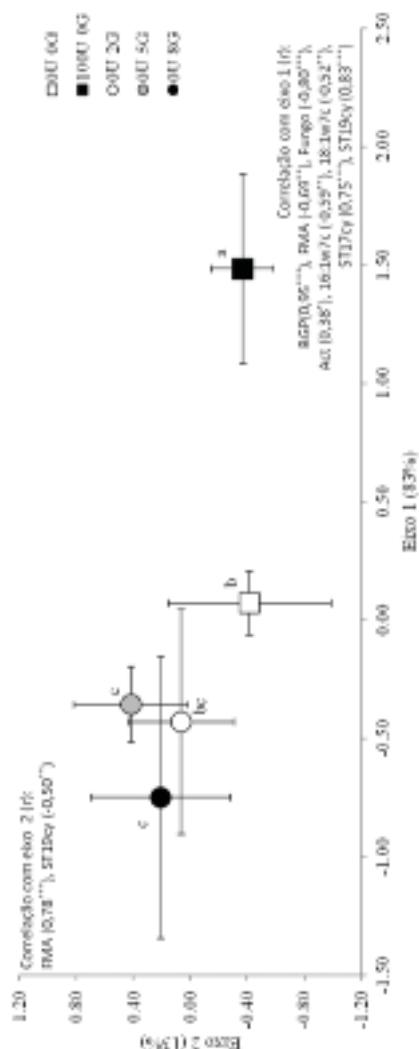
O objetivo desse estudo foi avaliar o impacto de aportes de resíduos de gliricídia e ureia como fonte de N em pomar cítrico sobre a estrutura das comunidades e funcionalidades microbianas em solo de Tabuleiros Costeiros de Sergipe visando à melhoria da qualidade do solo, em um segundo ciclo de avaliação (2º ano de experimento).

## Material e Métodos

O experimento para esse estudo foi implantado em Argissolo Amarelo no Campo Experimental de Umbaúba/SE em um pomar de citros com copa de laranja pêra e porta-enxerto de limão cravo, em 2011. O espaçamento foi de 6 m x 4 m. Utilizou-se delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições e cinco tratamentos: T1 = fornecimento dos nutrientes recomendados para cada ano a partir do plantio do experimento (SOBRAL et al., 2008), na forma mineral, exceto N; T2 = T1 + dose total de N recomendada para cada ano, como ureia; T3, T4 e T5 = T1 + N fornecido por resíduos de duas, cinco e oito plantas de gliricídia por planta de citrus. As plantas de gliricídia utilizadas como fonte de N são dispostas em duas fileiras em entrelinhas alternadas de citros, com espaçamento de 2,50 m entre a linha de gliricídia e a de citros adjacente. As gliricídias foram podadas a cada intervalo de três a quatro meses e o material de parte aérea depositado sobre a zona de coroamento de plantas cítricas. Na data de coleta de amostras de solo (maio de 2013), seis cortes e deposições já haviam sido realizados. As amostras de solo para análises foram coletadas na zona do coroamento das plantas a uma profundidade de 0-10 cm. Após coletadas, as amostras de solo foram remetidas para o Laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Tabuleiros Costeiros, onde foram peneiradas em malha de 2 mm de diâmetro e acondicionadas a 4 °C até o início das análises. Foram determinados respiração basal (SILVA et al., 2007), as atividades das enzimas fosfatase ácida,  $\alpha$ -glicosidase, arilsulfatase (Tabatabai 1994), sacarase e xilanase (SCHINNER; VON MERSE, 1990), glomalina facilmente extraível (WRIGHT; UPADHYAYA, 1998) e análise da estrutura das comunidades microbianas (CM), por meio dos perfis de ácidos graxos de ligações éster (SCHUTTER; DICK, 2000). A estrutura das CM foi representada pela técnica de ordenação de *non-metric multidimensional scaling* - NMS (SOKAL, 1979). Diferenças nestas comunidades foram atribuídas após teste de *multiresponse permutation procedure* - MRPP,  $P < 0,05$  (MIELKE; BERRY, 2000). Correlações de Pearson entre escores da ordenação por NMS e concentrações de biomarcadores de grandes grupos microbianos nas amostras de solo foram utilizadas para caracterizar as alterações nas estruturas das CMs. O teste de Bonferroni ( $P < 0,05$ ) foi empregado para comparar médias das demais variáveis entre diferentes tratamentos.

## Resultados e Discussão

Diferenças na estrutura das comunidades microbianas estabelecidas sob os tratamentos foram descritas por um gráfico bidimensional pela técnica do NMS (Figura 1). Noventa e seis por cento da variabilidade original dos dados de EL-FAME foram representados por este gráfico, sendo 83% representados pelo Eixo 1 e 13%, pelo Eixo 2.



**Figura 1.** Estruturas das comunidades microbianas (ECM) do solo sob os tratamentos sem N (OU OG), com N-ureia e com adição de resíduos derivados de 2 (OU 2G), 5 (OU 5G) e 8 (OU 8G) plantas de gliricídia na área de coroamento de citros. Os símbolos representam o centroide das ECMs. As barras de erro representam 1 DP. Centroides seguidos por mesmas letras não diferem entre si ( $P < 0,05$ ). Coeficientes de correlação entre marcadores microbianos e Eixos 1 e 2 são apresentados nos respectivos eixos. BGP = bactérias gram positivas, ACT = actinomicetos, FMA = fungos micorrízicos arbusculares, 17:0cy/16:1n7c (ST17cy) e 19:0cy/18:1n7c (ST19cy) = indicadores de estresse microbiano.



A estrutura das comunidades microbianas (CM) desenvolvidas sob os três tratamentos com adição de glicerídia não diferiu. Deste modo, três CM distintas foram observadas nos diferentes tratamentos: CM1, sob T1; CM2, sob T2 e CM3, sob T3, T4 e T5. O gradiente estrutural estabelecido da esquerda para a direita do Eixo 1 foi caracterizado por incrementos relativos em bactérias gram positivas (BGP) e actinomicetos, e por decréscimos em fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Deste modo, CM2 foi constituída por maiores proporções de BGP e actinomicetos que as demais CM, o oposto sendo válido para FMAs. As duas relações entre ácidos graxos ciclopropenos e seus precursores (17:0cy/16:1 $\omega$ 7c e 19:0cy/18:1 $\omega$ 7c), utilizadas como indicadores de estresse microbiano, também aumentaram em direção ao tratamento com ureia.

A adição de glicerídia promoveu as atividades de arilsulfatase, beta-glicosidase e fosfatase, em relação aos controles (OU OG e 100U OG), porém entre os níveis de glicerídia não foram observadas diferenças nestas atividades (Tabela 1). O acúmulo de glomalina também foi promovido pelos resíduos de glicerídia em relação ao controle OU OG. A adição de ureia reduziu a RBS em relação ao controle e a atividade de sacarase em relação aos tratamentos com glicerídia. Ao contrário da tendência observada para a maioria das enzimas, a atividade de xilanase foi estimulada pela adição de ureia.

**Tabela 1.** Efeito da adição de ureia (U) e de diferentes quantidades de resíduos de glicerídia na região do coroamento de plantas de citros sobre a atividade de arilsulfatase (AriIS), beta-glicosidase (β-Glic), fosfatase ácida (Fosf), sacarase, xilanase e celulase, e a respiração basal do solo (RBS) e teores de glomalina em solo de Tabuleiros Costeiros.

Trat <sup>1</sup>	AriIS	β-Glic	Fosf	RBS	Sacarase	Xilanase	Celulase	Glomalina
	$\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\mu\text{g glicose g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\mu\text{g glicose g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\mu\text{g glicose g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\mu\text{g glicose g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\mu\text{g BSA g}^{-1}$
0U 0G	67,6 b	54,2 b	1095,8 ab	9,6 a	96,2 ab	46,7 b	7,4 a	2,8 c
100U 0G	41,5 b	41,0 b	754,4 b	3,8 b	80,0 b	77,2 a	8,1 a	3,4 cb
0U 2G	195,1 a	113,6 a	1505,7 a	7,6 ab	110,0 a	53,2 b	8,6 a	4,0 ab
0U 5G	174,4 a	163,9 a	1576,9 a	7,5 ab	107,4 a	37,7 b	8,1 a	4,6 a
0U 8G	251,8 a	160,3 a	1546,8 a	7,9 ab	105,4 a	46,3 b	8,0 a	4,3 a

<sup>1</sup> Tratamentos: 0U 0G: sem ureia e sem resíduos de glicerídia, 100U 0G: 100% da dose de N fornecida como ureia e sem resíduos de glicerídia; 0U 2G, 0U 5G e 0U 8G: sem ureia e com adição de resíduos de 2, 5 e 8 plantas de glicerídia por planta de citros, respectivamente.

## Conclusão

Diferentes fontes de N afetam a estrutura da comunidade, o estado de estresse e a funcionalidades da microbiota associadas ao acúmulo de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes em pomares de citros. Estes resultados são, em grande parte, consistentes com os obtidos no primeiro ano de avaliação.

## Agradecimentos

À FAPITEC pela concessão de bolsa PIBITI.

## Referências

ANJOS, J. L. dos; SOBRAL, L. F.; BARRETO, A. C.; SILVA, L. M. S.. Adubação de laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis*, Osb.) com leguminosas e uréia num Argissolo Amarelo dos Tabuleiros Costeiros. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 15., 2004, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 2004. 1 CD ROM.

BARRETO, A. C.; CHAER, G. M.; FERNANDES, M. F. Hedgerow pruning frequency effects on soil quality and maize productivity in alley cropping with *Gliricidia sepium* in Northeastern Brazil. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 120, p. 112-120, 2011.

BOSSUYT, H.; DENEFF, K.; SIX, J.; FREY, S. D.; MERCKX, R.; PAUSTIAN, K. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 16, p. 195-208, 2001.

MIELKE, P. W.; BERRY, K. J. **Permutation methods: a distance function approach**. New York: Springer-Verlag, 2000.

SCHINNER, F.; MERSI V. W. Xylanase, CM-Cellulase, and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, n. 4, p. 511-515, 1990.

SCHUTTER, M. E.; DICK, R. P. Comparison of fatty acid methyl ester (FAME) methods for characterizing microbial communities. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 64, p. 1659-1668, 2000.

SOKAL, R.R. Testing statistical significance of geographic variation patterns. **Systematics Zoology**, Oxford, v. 28, p. 627-632, 1979.

TABATABAI, M. A. Soil Enzymes. In: WEAVER, W. R. et al. (Ed.). **Methods of soil analysis: part 2 - microbiological and biochemical properties**. Madison: SSSA, 1994. p. 775-833.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant Soil**, Hague, v. 198, n. 97-107, 1998.

# Taxa de Diluição e Tipo de Recipiente de Envase na Criopreservação do Sêmen de Tambaqui

**Flavia Hipólito de Araujo<sup>1</sup>; Carlos Adriano Rocha Silva Moraes<sup>2</sup>; David Lopes Fernandes<sup>3</sup>; Rafael Venâncio de Araújo<sup>4</sup>; Paulo César Falanghe Carneiro<sup>5</sup>; Hymerston Costa Azevedo<sup>6</sup>; Alexandre Nizio Maria<sup>7</sup>**

## Resumo

A taxa de diluição do sêmen em relação à solução crioprotetora e o volume dos recipientes de acondicionamento são fatores que afetam a qualidade espermática do sêmen no processo de criopreservação. A resposta das diferentes espécies a esses fatores é bastante variável, e o estudo desse parâmetro é importante para o aperfeiçoamento das técnicas de criopreservação. O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros de cinética espermática do sêmen de tambaqui, submetido a diferentes taxas de diluição sêmen : solução crioprotetora e criopreservado em recipientes de diferentes volumes. O sêmen de nove machos foi coletado e diluído 1:1, 1:4, 1:9 ou 1:19, em solução crioprotetora (metilglicol, glicose e gema de ovo) e envasado em criotubos de 1,6 e 5,0 mL ou macropalhetas de 4,0 mL. O congelamento foi realizado em botijão de vapor de nitrogênio líquido (*dry shipper*) e o descongelamento em banho maria a 60°C por 90 s (criotubos de 1,6 e 5,0) ou 24 s (macropalheta). As amostras foram ativadas com bicarbonato de sódio 230 mM e analisadas quanto à cinética espermática através do programa Sperm Class Analyser (SCA®). As diluições 1:4 e 1:9 foram as que obtiveram melhores resultados com relação aos parâmetros de cinética espermática avaliados, não sendo detectada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os recipientes de

<sup>1</sup> Graduando em Engenharia de Pesca, Bolsista FAPITEC/Embrapa Tabuleiro Costeiro, Aracaju, SE, flaviahipolito@hotmail.com.

<sup>2</sup> Graduando em Engenharia de Pesca, bolsista FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Graduando em Medicina Veterinária, Bolsista Cnpq/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>4</sup> Zootecnista, doutor, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>5</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Zootecnia, pesquisador Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>6</sup> Médico-veterinário, doutor em Medicina Veterinária, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>7</sup> Zootecnista, doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

armazenamento. O sêmen de tambaqui pode ser criopreservado com sucesso quando diluído 1:4 ou 1:9 (sêmen : solução crioprotetora) e envasado em criotubos de 1,6 e 5,0 mL ou macropalhetas 4 mL.

**Palavras-chave:** *Colossoma macropomum*, criopreservação, taxa de diluição, criotubos, peixe.

## Introdução

O Tambaqui *Colossoma macropomum* é uma espécie nativa da bacia amazônica e possui grande importância na piscicultura continental do Brasil. Atualmente diversos estudos relacionados à reprodução, como indução hormonal, caracterização espermática e criopreservação do sêmen têm sido realizados (MARIA et al., 2010; 2011).

No processo de criopreservação, o sêmen é diluído em solução crioprotetora antes do congelamento, na tentativa de diminuir os danos causados as células espermáticas devido à diminuição brusca de temperatura. Essas soluções podem ser classificadas como crioprotetores intra ou extracelulares. Os intracelulares são aqueles que protegem os espermatozoides durante o congelamento e atuam na diminuição do ponto de congelamento da água, reduzindo o estresse osmótico e os efeitos da cristalização sobre a estrutura celular (LINHARES, 2012), como é o caso do glicerol, dimetilsulfoxido (DMSO) e metilglicol. Já os extracelulares são responsáveis pela proteção da membrana celular contra o choque térmico, sendo que os mais utilizados são a gema de ovo e o leite desnatado.

A proporção da diluição entre o sêmen e a solução crioprotetora, embora variável entre pesquisadores, é um detalhe metodológico importante porque pode significar um melhor aproveitamento do sêmen, na caracterização de uma possível “dose fertilizante”, como ocorre para ejaculados de mamíferos. Em peixes, esta variação também ocorre e são observadas variações em relação à qualidade espermática de uma mesma espécie em resposta a diferentes taxas de diluição empregadas. Nesse sentido, o estudo da melhor taxa de diluição do sêmen em relação à solução crioprotetora, busca uma proporção que ao mesmo tempo proteja as células contra as crioinjúrias causadas pelo processo de congelamento e maximize o número de células por recipiente de armazenamento. O uso de taxas de diluição adequadas associadas à utilização de recipientes de

armazenamento do sêmen de maior volume como criotubos e macropalhetas, contribui para o aperfeiçoamento das técnicas de criopreservação, facilitando o intercâmbio de material genético necessário para os programas de melhoramento, além de maximizar as atividades de rotina de produção de alevinos nas pisciculturas.

O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros de cinética espermática do sêmen de tambaqui, submetido a diferentes taxas de diluição do sêmen em relação à solução crioprotetora, quando criopreservado em recipientes de diferentes volumes.

## Material e Métodos

Nove machos adultos pertencentes a Piscicultura Santa Clara (Propriá, SE), foram selecionados e induzidos hormonalmente. Dez horas após a indução o sêmen de cada macho foi coletado em tubos de ensaio por massagem abdominal, tomando-se os devidos cuidados para evitar contaminação por fezes, urina ou água. Para a seleção das amostras de sêmen utilizadas, inicialmente foi avaliada a presença de motilidade espermática removendo-se cinco  $\mu\text{L}$  de sêmen de cada macho e levado a visualização em lâmina sob microscópio óptico (400X) e ativadas com bicarbonato de sódio 230 mM. As amostras que apresentaram pré-ativação da motilidade foram consideradas contaminadas, sendo portando descartadas e selecionadas apenas as que obtiveram 80% de motilidade. Depois de selecionada as amostra de sêmen foram feitos três pool, sendo cada pool composto com sêmen de três animais.

As amostras de cada pool foram diluídas nas proporções de 1:1, 1:4, 1:9 e 1:19 em solução de congelamento a base de glicose 5%, metilglicol e gema de ovo e envasados em criotubos de 1,6 e 5 mL e macropalheta de 4 mL. Após 20 minutos de contato do sêmen com a solução de criopreservação, as amostras foram congeladas em botijão de vapor de nitrogênio líquido (dry-shipper) de acordo com o protocolo proposto por MARIA e outros, 2011. Para o descongelamento as amostras foram submetida ao banho maria a 60 °C durante 90 segundos (criotubos 1,6 e 5,0 mL) ou 24 segundos (macropalhetas 4,0 mL). Após o descongelamento a cinética espermática de cada amostra foi avaliada pelo analisador computadorizado de sêmen Sperm Class Analyzer - SCA® utilizando-se como solução ativadora o bicarbonato de sódio 230 mM. Os seguintes parâmetros foram avaliados: motilidade total (MT - %); motilidade progressiva (MP - %);

velocidade curvilinear (VCL -  $\mu\text{m/s}$ ); velocidade em linha reta (VSL -  $\mu\text{m/s}$ ) e; velocidade de trajeto (VAP -  $\mu\text{m/s}$ ). Espermatozóides que apresentaram velocidade não progressiva (entre 20 a 60  $\mu\text{m/s}$ ) foram classificados como lentos; com velocidade progressiva lenta (entre 60 e 100  $\mu\text{m/s}$ ) como média; e com velocidade progressiva rápida (acima de 100  $\mu\text{m/s}$ ) como rápida.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados em um sistema fatorial: 4 x 3 (4 taxas de diluição sêmen : solução de criopreservação x 3 recipientes de armazenamento do sêmen). Os dados foram submetidos à análise de variância e, em caso de diferença significativa, foi aplicado o teste Tukey, com 5% de significância pelo *software* estatístico SISVAR.

## Resultados e Discussão

As diluições 1:4 e 1:9 (sêmen : solução crioprotetora) foram as que obtiveram melhores resultados com relação aos parâmetros de cinética espermática avaliados, não sendo detectada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os recipientes de armazenamento testados (criotubos 1,6 e 5,0 e macropalhetas 4,0 mL). Os parâmetros de cinética espermática do sêmen de tambaqui pós-congelamento estão descritos na Tabela 1.



**Tabela 1.** Parâmetros de cinética espermática do sêmen de tambaqui criopreservado em recipientes de diferentes volumes submetidos a diferentes taxas de diluição sêmen: solução de criopreservação.

Parâmetro	Recipiente (Tipo/mL)	Diluição				
		1:1	1:4	1:9	1:19	
MT (%)	Criotubo 1,6	45 ± 6	54 ± 9	55 ± 6	38 ± 1	48 A
	Criotubo 5,0	46 ± 1	51 ± 2	49 ± 11	41 ± 4	47 A
	Macropalheta 4,0	49 ± 8	49 ± 11	59 ± 15	45 ± 11	50 A
	Média	46 ab	51 ab	54 a	41 b	
MP (%)	Criotubo 1,6	15 ± 7	25 ± 7	30 ± 4	11 ± 2	20 A
	Criotubo 5,0	14 ± 3	23 ± 1	22 ± 10	9 ± 3	17 A
	Macropalheta 4,0	19 ± 6	19 ± 6	29 ± 13	15 ± 7	20 A
	Média	16 bc	22 ab	27 a	12 c	
VCL (µm.s <sup>-1</sup> )	Criotubo 1,6	67 ± 11	77 ± 6	85 ± 1	59 ± 6	72 A
	Criotubo 5,0	66 ± 7	76 ± 1	76 ± 11	56 ± 8	69 A
	Macropalheta 4,0	73 ± 7	73 ± 9	82 ± 12	63 ± 6	73 A
	Média	69 bc	76 ab	81 a	59 c	
VSL (µm.s <sup>-1</sup> )	Criotubo 1,6	37 ± 12	51 ± 7	57 ± 3	34 ± 6	45 A
	Criotubo 5,0	37 ± 7	51 ± 1	48 ± 11	28 ± 8	41 A
	Macropalheta 4,0	44 ± 7	46 ± 9	54 ± 12	38 ± 6	45 A
	Média	39 bc	49 ab	53 a	33 c	
VAP (µm.s <sup>-1</sup> )	Criotubo 1,6	51 ± 13	64 ± 7	72 ± 3	44 ± 6	58 A
	Criotubo 5,0	50 ± 7	64 ± 3	61 ± 12	39 ± 8	54 A
	Macropalheta 4,0	58 ± 9	60 ± 11	67 ± 12	48 ± 8	58 A
	Média	53 bc	63 ab	67 a	44 c	

A-B a-b Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

No presente estudo a motilidade subjetivas no sêmen in natura de todos os machos foram acima de 80% sendo considerado o ideal para a criopreservação. E o volume de sêmen coletado foi de 45,4 mL.

De acordo com BALL (2001) as diferentes formas e materiais dos recipientes de armazenamento de podem resultarem em diferentes taxas de transferências de calor com congelado e descongelado, mas não foi observada diferença significativa para esses parâmetros em nenhum das diluições utilizada pra sêmen de Tambaqui, quando avaliado a cinética espermática das células.

A taxa de diluição 1:10 (sêmen: volume total) foi utilizada para sêmen pirapitinga, e a após o descongelamento obteve-se uma elevada taxa de motilidade (OLIVEIRA RT al., 2007). Já para a piracanjuba essa diluição não apresentou motilidade elevada, sendo a melhor à taxa de diluição 1:5 (MARIA et al., 2006).

Vieira (2010) encontrou para sêmen de Tambaqui a maior porcentagem de espermatozoide móveis após o descongelamento a taxa de diluição 1:3 quando utilizado diluentes a base de água de coco em pó (ACP-104), no atual experimento foi observado que as diluições de 1:4 e 1:9 mostrou-se superior para os parâmetros de cinéticas espermáticas.

## Conclusão

O sêmen de tambaqui pode ser criopreservado com sucesso quando diluído 1:4 ou 1:9 (sêmen : solução crioprotetora) e envasado em criotubos de 1,6 e 5,0 mL ou macropalhetas de 4 mL. Entretanto, para um melhor aproveitamento do sêmen indica-se a utilização de criotubos de 5,0 mL e diluição 1:4, o que confere a capacidade de fertilizar um maior número de ovócitos por amostra criopreservada.

## Referências

BALL, B. A.; VO, A. Osmotic tolerance of equine spermatozoa and the effects of soluble cryoprotectant on equine sperm motility, viability and mitochondrial membrane potential. **Journal of Andrology**, Lawrence, US, v. 22, p. 1061-1069, 2001.

HUNTER, R. H. F. **Fisiologia e tecnologia da reprodução da fêmea dos animais domésticos**. Zaragoza, ES: Acribia, 1982.

LINHARES, F. R. A. **Efeito de diferentes taxas de diluição e protocolos de congelamento sobre a cinética e morfologia de espermatozoides de Carpa Comum (*Cyprinus carpio*) criopreservados em água de coco em pó (ACP-104)**. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2012.

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; CARNEIRO, P. C. F. **Protocolo para Criopreservação do Sêmen de Tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2011. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Comunicado Técnico, 112).

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, J. P.; SILVA, C. A.; CARNEIRO, P. C. F. Semen characterization and sperm structure of the Amazon Tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 26, p. 779-783, 2010.

MARIA, A. N.; VIVEIROS, A. T. M.; FREITAS, R. T. F. et al. Extenders and cryoprotectants for cooling and freezing of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) semen, an endangered Brazilian teleost fish. **Aquaculture**, Amsterdam, NL, v. 260, p. 298-306, 2006.

MILIORINI, A. B. **Ativadores e concentrações de metanol e dimetilsulfóxido na qualidade do sêmen criopreservado de curimba (*Prochilodus lineatus*)**. 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, MG, 2006.

OLIVEIRA, V. A.; VIVEIROS, M. T. A.; MARIA, A. N., FREITAS, F. T. R.; IZAU, A. Z. Sucesso do resfriamento e congelamento de sêmen de pirapitinga *Brycon nattereri*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 6, p. 1509-1515, 2007.

VIEIRA, M. J. A. F.; **Caracterizacao do semen de tambaqui *Colossoma macropomum* (Curvier, 1818) e criopreservacao em diluentes a base de agua de coco em po (ACP-104)**. 2010. 114 f. Tese (Doutorado em Ciencias Veterinarias) - Universidade Estadual do Ceara, Fortaleza, 2010.

# Caracterização Socioeconômica, Produtiva e Ambiental de Assentamentos Rurais em Sergipe

*Rony Melo Guimarães<sup>1</sup>; Fernando Fleury Curado<sup>2</sup>*

## Resumo

Durante a formação de processos participativos nas comunidades rurais, que valorizam os saberes locais sobre o uso e manejo dos recursos naturais integralizado com os saberes de origem acadêmica, se faz necessária a sistematização de informações de diferentes características, da realidade e da dinâmica das comunidades, para que se efetivem transformações que possam trazer benefícios para tais comunidades. Assim a Embrapa Tabuleiros Costeiros vem desenvolvendo o projeto *Experimentação Participativa e Agroecologia em Assentamentos Rurais de Sergipe*. Este trabalho tem como objetivo caracterizar a realidade de cinco assentamentos rurais no Estado de Sergipe, permitindo o avanço dos conhecimentos e a identificação de mecanismos para a definição de proposições de desenvolvimento sustentável. Durante a caracterização foi possível observar que no tocante a produção é possível observar que o seu maior volume é direcionado para o consumo doméstico, sendo o excedente direcionado à comercialização. Observou-se a existência de experiências agroecológicas em todos os assentamentos, destacando-se os policultivos, formas de manejo da vegetação da Caatinga, a valorização de quintais produtivos, estratégias de manejo da água nos sistemas de produção, dentre outras. Portanto, as informações preliminares demonstraram a importância da definição de estratégias metodológicas que garantam a participação social na pesquisa. Tais estratégias permitiram a compreensão da realidade dos Assentamentos Rurais.

**Palavras-chave:** desenvolvimento rural, experimentação agroecológica participativa, agricultura familiar.

<sup>1</sup> Graduando de Agronomia, bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, rony.guimaraes@hotmail.com.

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, fernando.curado@embrapa.com.

## Introdução

A agroecologia possui, nos conhecimentos e experiências já acumulados, uma rica ferramenta de estudo e intervenção que, além de manter coerência com suas bases científicas, busca contribuir e promover transformações sociais necessárias para gerar padrões de produção e consumo mais sustentáveis (CAPORAL, 2009). Para concretizar tais transformações, a sistematização de informações de diferentes características, da realidade e da dinâmica das comunidades, se torna ferramenta fundamental. Assim, é essencial a criação de espaços e momentos integradores que promovam o intercâmbio de saberes entre pesquisadores, técnicos e agricultores.

O mais característico e próprio da reflexão sistematizadora é que ela busca penetrar no interior da dinâmica das experiências. Algo assim como entranhar-se nesses processos sociais vivos e complexos, circulando entre seus elementos, percebendo a relação entre eles, percorrendo suas diferentes etapas, localizando suas contradições, tensões, marchas e contramarchas, chegando assim a entender estes processos a partir de sua própria lógica, extraíndo ensinamentos que possam contribuir para o enriquecimento tanto da prática como da teoria (HOLLIDAY, 2006). Nesse contexto, o presente trabalho objetivou caracterizar a realidade de cinco assentamentos rurais no Estado de Sergipe, permitindo o avanço dos conhecimentos e a identificação de mecanismos para a definição de proposições de desenvolvimento sustentável.

## Material e Métodos

As atividades desenvolvidas para a caracterização dos assentamentos foram conduzidas no projeto de *Experimentação Participativa e Agroecologia em Assentamentos Rurais de Sergipe* da Embrapa Tabuleiros Costeiros desde o ano de 2011. Os assentamentos foram selecionados tendo como principais critérios para seleção: a organização interna do assentamento; a inserção dos mesmos em suas respectivas articulações territoriais; a disponibilidade de áreas apropriadas para experimentação no assentamento; as experiências anteriores de parceria com a Embrapa; o interesse dos agricultores na experimentação participativa e; o fato de estarem localizados em áreas que caracterizam a diversidade de agroecossistemas nos Biomas Mata Atlântica e Caatinga.

Após a definição dos assentamentos foi realizada a sensibilização dos agricultores através de reuniões, visando a apresentação do projeto e, principalmente, o envolvimento e integração dos atores locais na proposta. Neste momento, foram utilizadas dinâmicas próprias que buscaram a identificação de lideranças nas comunidades, buscando a articulação interna, constituindo os Grupos de Apoio, em cada assentamento, com papéis determinantes em todas as etapas do projeto.

Todo o processo de construção deste momento inicial foi sistematizado na forma de apresentações e apresentado aos agricultores na forma de oficinas de devolução nos assentamentos. Além disso, foram realizadas entrevistas semi-estruturadas (individuais e coletivas), assim como técnicas de Diagnóstico Rápido Participativo (DRP) nos locais selecionados, favorecendo o processo coletivo de caracterização socioeconômica destes espaços, a compreensão do processo histórico de luta pela terra e das demandas produtivas, além da identificação das tecnologias agroecológicas existentes nestes locais. Estes momentos possibilitaram a discussão sobre a complexidade dos sistemas de produção da agricultura familiar e a identificação e planejamento dos espaços onde as tecnologias seriam avaliadas.

**Tabela 1.** Localização, número de famílias e ano de criação de cinco Assentamentos Rurais no Estado de Sergipe.

Assentamento	Município	Número de famílias	Ano de criação
José Félix de Sá	Pirambú	24	2002
José Gomes da Silva	Lagarto	40	1997
Novo Marimbondo	Tobias Barreto	76	2008
Santa Rita	Canindé de São Francisco	40	2002
Extrativista São Sebastião	Pirambu	28	2005

## Resultados e Discussão

De modo geral, as metodologias participativas permitiram a percepção coletiva de que os problemas que dificultam a produção agroecológica nos cinco assentamentos são semelhantes. Da mesma forma, as ações realizadas nas localidades permitiram a reflexão crítica sobre as formas de intervenção social realizadas pelos técnicos nestes espaços. Vários agricultores alegaram a

ausência de técnicos qualificados para a assistência técnica, ou assessoria em assentamentos.

Existem dificuldades no acesso a crédito específico para produção agroecológica. Em todos os assentamentos analisados, os agricultores adquiriram dívidas com o governo por não terem conseguido quitar os financiamentos do Pronaf B, liberado pelo Banco do Nordeste (BNB) e dos Créditos Fomento, Habitação e Apoio Inicial, liberados pelo INCRA. Assim, a aquisição de novos recursos para investimentos nos lotes mostrou-se comprometida.

Uma das causas da inadimplência dos assentados foi a aplicação de parte dos recursos em atividades sem retorno lucrativo. Uma segunda causa é a utilização de tecnologias inapropriadas nos cultivos e criações, que são consequências da falta de assistência técnica. A ausência da definição de estratégias metodológicas que favoreçam a participação dos agricultores nas decisões individuais e coletivas mostrou-se evidente em todos os assentamentos. Alguns agricultores no Assentamento José Félix de Sá, por exemplo, citaram ainda que o valor recebido foi insuficiente para a realização de obras estruturantes nos lotes, demonstrando a ausência da participação social nas definições das melhorias nestes espaços. Alguns relatos evidenciaram ainda a falta de informação sobre a utilização do crédito

Nos assentamentos José Félix de Sá, José Gomes da Silva e Novo Marimbondo alguns agricultores assentados criam animais de grande porte em pequenas áreas, entre sete e dez hectares, impossibilitando uma criação que gere renda suficiente para família. A questão do tamanho médio dos lotes também foi identificada por Souza e Cunha (2008) na mesma região das localidades supracitadas. Segundo tais autores, as famílias assentadas desenvolvem suas atividades agrícolas em área média de dez hectares muitas vezes em condições de solos de baixa fertilidade natural e em localidades com limitações climáticas, comprometendo até mesmo a produção para subsistência das famílias.

No tocante a produção, é possível observar que o maior volume é direcionado para a subsistência das famílias, sendo o excedente destinado à comercialização, sendo também perceptível a ausência de práticas coletivas nestas atividades. De maneira geral os agricultores trabalham com várias culturas e criações nas suas propriedades. Aquelas que são comumente desenvolvidas por todos os assentamentos são milho (*Zea mays*), feijão de arranque (*Phaseolus vulgaris*),

feijão de corda (*Vigna unguiculata*), abobora (*Cucurbita moschata*), batata-doce (*Ipomoea batatas*), mandioca e macaxeira (*Manihot esculenta* Crantz). As criações de aves, ovinos e bovinos também foram identificadas.

Observou-se em quase todos os assentamentos, a prática da priorização de alguma atividade em que dedicam maior tempo e capital. No assentamento José Félix de Sá o cultivo que possui maior destaque é a do abacaxi (*Ananas comosum*), comercializado junto aos atravessadores, ou diretamente na feira livre da cidade de Aquidabã. Nos Assentamentos José Gomes da Silva, Novo Marimondo e Santa Rita ocorre a priorização da criação de bovinos, sem raça definida, com aptidão tanto para produção de carne como de leite. Somente no Assentamento Agroextrativista São Sebastião a prática da priorização de uma única atividade produtiva não se mostrou expressiva. Observou-se que diversas atividades produtivas são conduzidas pelos agricultores, desde a pesca, o plantio de culturas como mandioca, feijão, coco (*Coco nucifera*), até o extrativismo da palha do Ouricuri (*Scheelea Phalerata*), utilizada como matéria prima para o artesanato da região e do fruto da mangabeira (*Hancornia speciosa*) que é vendido in natura a atravessadores que se deslocam até o assentamento.

Observou-se a existência de experiências agroecológicas em todos os assentamentos, destacando-se os policultivos, formas de manejo da vegetação da Caatinga, valorização de quintais produtivos, estratégias de manejo da água nos sistemas de produção, armazenamento de sementes crioulas, dentre outras.

No Assentamento José Félix de Sá alguns agricultores plantam sementes crioulas de milho em períodos diferentes que os das sementes híbridas para não haver o cruzamento de material vegetal. No Assentamento Novo Marimondo algumas famílias utilizam a manipueira (resíduo da fabricação da farinha de mandioca), urina de gado e extrato de neem (*Azadirachta indica*) para controle de insetos pragas, pimenta (*Capsicum* spp.) e babosa (*Aloe arborescens*) como remédio de animais.

## Conclusões

O processo participativo de caracterização dos assentamentos demonstrou a importância da definição de estratégias metodológicas que garantam a participação social na pesquisa. Tais estratégias permitiram a compreensão da realidade dos



Assentamentos Rurais e a identificação de propostas de intervenção baseadas em tecnologias agroecológicas desenvolvidas na forma de experimentações participativas.

## Referências

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A.; PAULUS, G. Matriz disciplinar ou novo paradigma para o desenvolvimento rural sustentável. In: CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A.; PAULUS, G. **Agroecologia**: uma ciência do campo da complexidade. Brasília, DF: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2009. P. 66.

HOLLIDAY, O. J. O que é sistematizar? In: PARA sistematizar experiências. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2006. 24 p.

SOUZA, J. M. M.; CUNHA, B. J. **Do plural ao Singular**: dimensões da reforma agrária e assentamentos rurais em Sergipe. Aracaju: EMBRAPA, 2008. 116 p.

# Impacto da Remoção da Palhada de Áreas de Dutivo de Cana-de-açúcar Colhida Sem Queima Sobre a Estrutura da Comunidade Microbiana do Solo

**Rafaela Moura Bezerra<sup>1</sup>; Yasmim Sotero Bomfim Fraga<sup>2</sup>; Thais de Jesus Santos<sup>3</sup>; Maria José Bryanne de Araújo<sup>4</sup>; João Lima de Menezes Jr.<sup>5</sup>; Érika Teixeira dos Anjos Brandão<sup>6</sup>; Paulo de Albuquerque Silva<sup>7</sup>; Walane Pereira de Mello Ivo<sup>8</sup>; Marcelo Ferreira Fernandes<sup>9</sup>**

## Resumo

O objetivo deste estudo foi quantificar o efeito da remoção da palhada sobre as estruturas taxonômica e funcional da comunidade microbiana de solos cultivados com cana-de-açúcar colhida sem queima. Estes resultados, juntamente com os de outras variáveis associadas à qualidade do solo e produtividade de cana-de-açúcar, permitirão estabelecer a quantidade de palha permitida de ser removida da área para fins energéticos, sem comprometimento da sustentabilidade da cultura. Para isto determinaram-se as estruturas funcionais (enzimas dos ciclos do C, P e S, respiração basal) e taxonômicas (perfis de ácidos graxos de fosfolipídios) de comunidades microbianas estabelecidas em solo com 0, 25, 50, 75 e 100% de palhada de cana-de-açúcar deixada na superfície das áreas de produção. A remoção de até 50% da palhada produzida em áreas de cana-de-açúcar não resulta em alteração na estrutura funcional da comunidade microbiana, comparativamente às áreas sem remoção de palha. Não foram observadas diferenças na estrutura taxonômica das comunidades microbianas entre os tratamentos.

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>2</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, yasmim.bomfim@hotmail.com.

<sup>3</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>4</sup> Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>5</sup> Graduando de Agronomia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>6</sup> Bióloga, doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>7</sup> Agrônomo, doutor em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>8</sup> Agrônomo, doutor em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>9</sup> Agrônomo, doutor em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marcelo.fernandes@embrapa.br.

**Palavras-chave:** ácidos graxos, agroenergia, enzimas do solo, qualidade do solo.

## Introdução

O bagaço e a palhada de cana-de-açúcar, além de serem produzidos em grandes quantidades, apresenta-se como uma matéria-prima barata e prontamente disponível como fonte de biomassa lignocelulósica renovável (DAWSON; BOOPHATY, 2007). A área de produção de cana-de-açúcar submetida à colheita sem despalha a fogo vem aumentando consideravelmente no Brasil. Estimativas apontam que 80% da área mais produtiva do país estará submetida a este manejo até 2023, envolvendo, inclusive, a colheita mecanizada (CERRI et al., 2003). No sistema de colheita crua, as folhas secas, os ponteiros e as folhas verdes são cortados e lançados sobre a superfície do solo, formando uma cobertura morta. A palhada modifica positivamente o ambiente em vários aspectos, como a proteção do solo contra erosão, conservação da umidade do solo, atividade microbiana no solo e seu enriquecimento em matéria orgânica e, principalmente, menor impacto ambiental (FURLANI NETO, 1994). A compreensão da dinâmica da decomposição desta palhada e os efeitos de sua retirada para fins energéticos na qualidade do solo (QS) são necessários.

A diminuição da QS em função do uso de práticas agrícolas inadequadas é expressa pela erosão dos solos, perda de matéria orgânica, redução da fertilidade e produtividade, contaminação química e degradação da qualidade do ar e da água (DAILY et al., 1997). O incremento do aporte de resíduos vegetais é indispensável para a sustentabilidade dos solos, especialmente os de Tabuleiros Costeiros, que apresentam baixos teores de matéria orgânica e reduzida agregação (FERNANDES et al., 2011; BARRETO et al., 2011). Estudos recentes têm mostrado uma covariação entre algumas variáveis microbiológicas e variáveis importantes para a QS, como taxa de infiltração, CTC, matéria orgânica e agregação do solo (SANT'ANNA et al., 2009; CHAER et al., 2009; FERNANDES et al., 2011) nos tabuleiros costeiros de Sergipe e Alagoas. O preparo do solo, a quantidade e a qualidade dos resíduos da cobertura vegetal impactam diversos fatores físicos e químicos do solo de importância para a atividade microbiana, tais como disponibilidade de nutrientes, aeração, umidade, pH e temperatura. Visto que grupos de organismos respondem distintamente a estes fatores (FIERER; JACKSON, 2006; CHAER et al., 2009), o uso agrícola apresenta grande potencial para alterar a estrutura da comunidade microbiana do solo. Por sua vez, grupos

taxonômicos microbianos distintos apresentam habilidades potenciais diferenciadas de impactar processos e propriedades de importância para a qualidade do solo, como a formação e estabilização de agregados, a conservação de matéria orgânica, e as taxas de fluxos biogeoquímicos (BOSSUYT et al., 2001; LOVELOCK et al., 2004; SCHMIDT et al., 2007).

As ações propostas neste projeto são parte de um esforço integrado de diferentes equipes avaliando componentes distintos da produção de cana-de-açúcar e variáveis associadas à qualidade do solo. A análise conjunta desses resultados permitirá determinar os níveis admissíveis de remoção da palhada dos canaviais para geração de energia, sem que haja comprometimento da conservação do solo. O objetivo deste estudo foi quantificar o efeito da remoção da palhada sobre as estruturas taxonômica e funcional da comunidade microbiana de solos cultivados com cana-de-açúcar colhida sem queima.

## Material e Métodos

O experimento utilizado nesta análise foi implantado na Usina Coruripe (Coruripe, AL), em um Argissolo Amarelo, em 2009. O delineamento experimental utilizado é o de blocos casualizados com quatro repetições. Cinco tratamentos têm sido avaliados anualmente, os quais são constituídos por níveis proporcionais crescentes de remoção da palhada produzida nas parcelas: 0,25%, 50%, 75% e 100%. Amostras de solo foram coletadas em outubro, antes da colheita da área, a uma profundidade de 0 a 10 cm. Amostras compostas, constituídas de subamostras de seis pontos de coleta, foram obtidas por parcela.

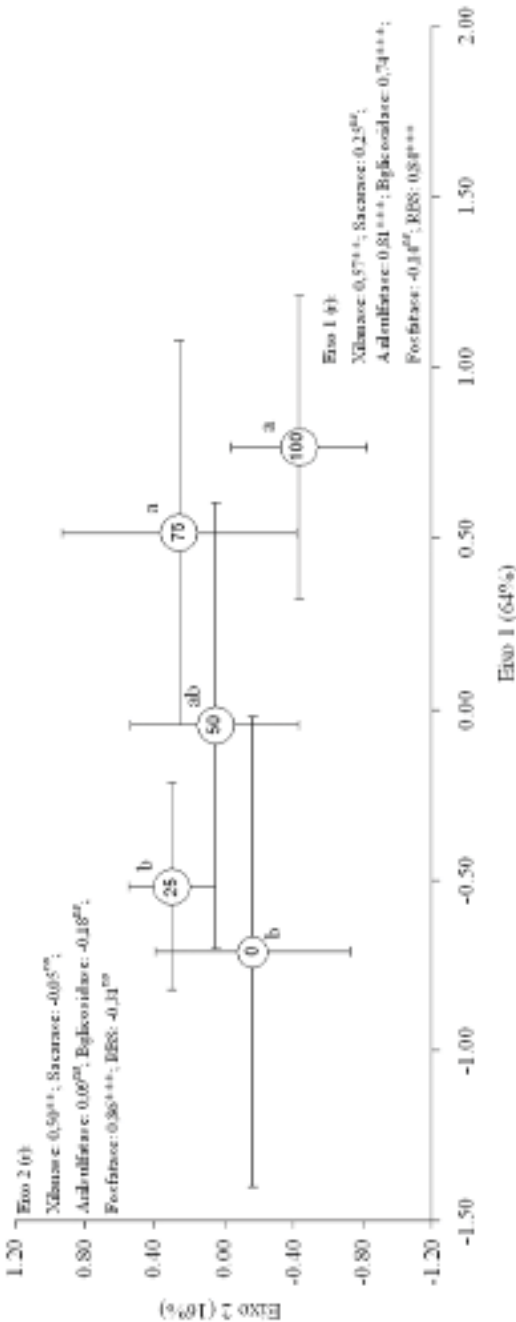
A estrutura taxonômica da microbiota do solo será determinada pela análise da composição dos perfis cromatográficos de ácidos graxos de fosfolipídios (phospholipid fatty acids, PLFA) extraídos do solo (WHITE; RINGELBERG, 1998). A estrutura funcional será determinada pela análise conjunta de dados das variáveis respiração basal (SILVA et al., 2007), e atividades de fosfatase,  $\alpha$ -glicosidase, aril-sulfatase (TABATABAI, 1994), xilanase e sacarase (SCHINNER; VON MERSE, 1990).

As estruturas taxonômica e funcional das comunidades microbianas serão descritas por ordenações multivariadas pela técnica do “non-metric multidimensional scaling” (NMS) (SOKAL, 1979), utilizando-se distâncias de

Sorensen. Um procedimento de permutação multirresposta MRPP (MIELKE; BERRY, 2000) será utilizado para testar a hipótese de efeito da remoção de quantidades crescentes de palha sobre estas estruturas microbianas. Todos os testes multivariados serão realizados utilizando o programa estatístico PC-ORD versão 6.

## Resultados e Discussão

Variações na estrutura funcional da comunidade microbiana nas amostras analisadas foram adequadamente descritas por uma ordenação bidimensional das amostras no espaço das variáveis (Figura 1). Esta ordenação representou 80% da variabilidade dos dados, sendo esta majoritariamente representada ao longo do eixo 1 (64%), comparativamente ao eixo 2 (16%). O eixo 1 foi fortemente associado ao gradiente de quantidade de palha remanescente no solo, que por sua vez foi correlacionado positivamente a todas as variáveis, exceto Pase. Não foram observadas diferenças entre a estrutura funcional das comunidades microbianas estabelecidas em solo com 50 e 75% de palhada remanescente, em relação àquela sem remoção de palha (100%).



**Figura 1.** Mudanças na estrutura funcional da microbiota em função da quantidade de palhada remanescente no solo após a colheita de cana-de-açúcar em área de Alagoas. Círculos representam o centróide de quatro repetições de amostras de solo sob diferentes proporções de palha remanescente. As proporções são indicadas no interior dos círculos. Barras de erros horizontais e verticais expressão  $\pm 1$  D.P. da média dos escores nos eixos 1 e 2, respectivamente. Símbolos seguidos de mesma letra não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de MRPP. Valores percentuais entre parênteses indicam a proporção da variabilidade total dos dados representada pelos eixos 1 e 2. Os coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) entre variáveis descritoras da estrutura funcional das comunidades e os eixos da ordenação NMS são indicados próximos aos respectivos eixos.

Não foram observadas diferenças na estrutura taxonômica das comunidades microbianas entre os tratamentos (dados não apresentados).

## Conclusões

A remoção de até 50% da palhada produzida em áreas de cana-de-açúcar não resulta em alteração na estrutura funcional da comunidade microbiana, comparativamente às áreas sem remoção de palha.

Não foram observadas diferenças na estrutura taxonômica das comunidades microbianas entre os tratamentos.

## Agradecimentos

À Usina Coruripe pela disponibilização da área experimental e de infraestrutura para condução do ensaio de campo.

## Referências

- BARRETO, A. C.; CHAER, G. M.; FERNANDES, M. F. Hedgerow pruning frequency effects on soil quality and maize productivity in alley cropping with *Gliricidia sepium* in Northeastern Brazil. **Soil Tillage Research**, Amsterdam, v. 120, p. 112-120, 2011.
- BOSSUYT, H.; DENEFF, K.; SIX, J.; FREY, S. D.; MERCKX, R.; PAUSTIAN, K. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.16, p.195-208, 2001.
- CERRI, C. C.; BERNOUX, M.; FEIGL, B. J.; PICCOLO, M. C.; CERRI, C. E. P. Balanço de gases nos sistemas de produção. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: RBCS, 2003. 1 CD-ROM.
- CHAER, G. M.; FERNANDES, M. F.; MYROLD, D.; BOTTOMLEY, P. Shifts in microbial community composition and physiological profiles across a gradient of induced soil degradation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, p. 1327-1334, 2009.

DAILY, G.; MATSON, P.; VITOUSEK, P. Ecosystem services supplied by soil. In: DAILY, G. (Ed.). **Nature's services: societal dependence on natural ecosystems**. Washington, D.C.: Island Press, 1997.

DAWSON, L.; BOOPATHY, R. Use of post-harvest sugarcane residue for ethanol production. **Bioresource Technology**, Essex, GB, v. 98, p. 1695-1699, 2007.

FERNANDES, M. F.; BARRETO, A. C.; MENDES, I. C.; DICK, R. P. Short-term response of physical and chemical aspects of soil quality of a kaolinitic Kandiadalfs to agricultural practices and its association with microbiological variables. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 142, p. 419-427, 2011.

FIERER, N.; JACKSON, R. B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Science**, Washington, v. 103, p. 626-631, 2006.

FURLANI NETO, V. L. Colheita mecanizada de cana-de-açúcar. **STAB**, Piracicaba, v.12, p. 8-9, 1994.

LOVELOCK, C. E.; WRIGHT, S. E.; NICHOLS, K. A. Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rain forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, US, v. 36, p. 1009-1012, 2004.

MIELKE, P. W.; BERRY, K. J. **Permutation methods: a distance function approach**. New York: Springer-Verlag, 2000.

SANT'ANNA, S. A. C.; FERNANDES, M. F.; MELLO IVO, W. M. P.; COSTA, J. D. Evaluation of soil quality indicators in sugarcane management in sandy loam soil. **Pedosphere**, Nanning, CN, v. 19, p. 312-322, 2009.

SCHINNER, F.; MERSI V. W. Xylanase, CM-Cellulase, and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, GB, v. 22, n. 4, p. 511-515, 1992.

SCHMIDT, S. K.; COSTELLO, E. K.; NEMERGUT, D. R.; CLEVELAND, C. C.; REED, S. C.; WEINTRAUB, M. N.; MEYER, A. F.; MARTIN, A. M. Biogeochemical consequences of rapid microbial turnover and seasonal succession in soil. **Ecology**, California, v. 88, n. 6, p. 1379-1385, jun. 2007.



SOKAL, R. R. Testing statistical significance of geographic variation patterns. **Systematics Zoology**, Ohio, USA, v. 28, p. 627-632, 1979.

TABATABAI, M. A. Soil Enzymes. In: WEAVER, W. R. et al. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: SSSA, 1994. Part 2: Microbiological and biochemical properties. p. 775-833.

WHITE, D. C.; RINGELBERG, D. B. Signature lipid biomarker analysis. In: BURLAGE, R. S.; ATLAS, S. R.; STAHL, D.; GEESEY, G.; SAYLER G., (Ed.). **Techniques in microbial ecology**. New York: Oxford University Press, 1998, p. 255-272.

# Adubação Orgânica em Campos de Multiplicação de Sementes Crioulas de Milho no Agreste Paraibano

*Priscila Maria Silva Francisco<sup>1</sup>; Raquelle Caroline Dos Santos Pinheiro<sup>2</sup>  
Emanoel Dias da Silva<sup>3</sup>; Amaury da Silva dos Santos<sup>4</sup>*

## Resumo

Este trabalho objetivou-se diagnosticar a importância dos campos de Multiplicação sementes crioulas, como incentivador do uso da adubação orgânica, junto aos agricultores familiares camponeses do agreste paraibano. Possibilitou que agricultores familiares comparassem a importância da utilização da adubação orgânica com esterco bovino, com o intuito de valorizar a saúde do solo. Para tanto foram instalados dois campos de multiplicação de sementes crioulas em duas propriedades de agricultores camponeses, guardiões de sementes, em Alagoa Nova e Montadas-PB. No estágio de maturação realizou-se um Dia de Campo para a avaliação participativa utilizando parâmetros qualitativos: estatura da planta e tamanho da espiga de milho, e produção. O campo de Alagoa Nova foi o que obteve melhor nota perante a avaliação dos agricultores e consequentemente maior produção. O fator preponderante para a supremacia em Alagoa Nova foi o maior índice pluviométrico observado, além do uso de práticas de manejo sustentável do solo.

**Palavras-chave:** semente da paixão, diálogo de saberes, bancos de sementes comunitários.

<sup>1</sup> Graduanda em Engenharia Agrônômica, Bolsista PIBIC – CNPq, Universidade Federal da Paraíba, Campus Areia priscila.m.s.f@hotmail.com.

<sup>2</sup> Graduanda em Engenharia Agrônômica, estagiária da Embrapa, Universidade Federal de Sergipe, raquellpinheiro@hotmail.com.

<sup>3</sup> Engenheiro-agrônomo, Assessor Técnico da AS-PTA Agricultura Familiar e Agroecologia, Esperança, PB, emanoel@aspta.org.br.

<sup>4</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Produção Vegetal, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. amaury.santos@embrapa.br.

## Introdução

As sementes da paixão, como são conhecidas as sementes crioulas no estado da Paraíba fazem parte de patrimônio cultural de milhares de famílias agricultoras, mas, com o uso indiscriminado de agrotóxicos, a iminente chegada das sementes transgênicas e a política contraditória de distribuição de sementes do governo, essa riqueza se encontra cada vez mais ameaçada (Almeida e Cordeiro, 2002).

Por questões do processo cultural da região, os agricultores no agreste paraibano destinam o esterco bovino para comercialização ou então é abandonado, ao invés de ser utilizado na sua própria lavoura com mais frequência, melhorando a estrutura e fertilidade do solo.

Diante deste contexto, são necessários estudos científicos que busquem identificar as características das atividades de manejo das sementes crioulas para ampliar sua produção e a sua utilização pelos (as) agricultores (as) familiares, junto com a adoção de sistemas produtivos eficientes e de baixo custo, o que poderá contribuir significativamente para o aumento da produção sustentável, com intuito de favorecer o desenvolvimento de políticas de sementes que considerem as adversidades climáticas e genéticas do semiárido paraibano.

A pesquisa com enfoque participativo, através de debate livre transparente, na própria instância de participação, sem a imposição de forças de dominação, teve como objetivo a sensibilização dos agricultores para a importância do uso do esterco em campos consorciados dentro de um sistema agroecológico de produção, possibilitando a obtenção de sementes crioulas com alta qualidade e vigor.

## Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida e coordenada pelo Pólo Sindical e das Organizações da Agricultura Familiar da Borborema (POAB), através de sua Comissão de Sementes. Consiste no resultado de uma demanda da Articulação do Semiárido Paraibano (ASA-PB) através de sua Rede de Bancos de Sementes da Paraíba representada pelas entidades: Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa (AS-PTA), Programa de Aplicação de Tecnologia Apropriada às Comunidades (PATAC), Comissão Pastoral da Terra (CPT), Coletivo Regional do Cariri, Sindicato dos Trabalhadores Rurais-PB (STRs), Cáritas Diocesana, Fórum do Agreste (FOLIA), Coletivo da Articulação do Semiárido Paraibano do Cariri Oriental (CASACO), Arriboçã e outros. Além destas entidades, o trabalho contou com a parceria da Embrapa Tabuleiros Costeiros e da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Foram identificadas as espécies e variedades que deveriam ser multiplicadas: milho, feijão e fava. Todas as sementes crioulas utilizadas nos dois campos foram provenientes do Banco Comunitário de Sementes de Alagoa Nova, do guardião de sementes, José de Oliveira Luna, conhecido também por Zé Pequeno.

No município de Alagoa Nova, agricultores optaram pelo uso da variedade de milho Jabotão em consórcio com feijão da variedade Carioca e com fava da variedade Cara Larga. O preparo do solo foi com auxílio da tração animal. O plantio foi de forma manual pelos agricultores em espaçamento de 1,00 x 0,50 m para as culturas do milho e fava, enquanto que o feijão foi semeado no espaçamento de 0,50 x 0,30 m, totalizando uma área do campo de 3.944 m<sup>2</sup>.

Para comparação do efeito da adubação orgânica definiu-se junto ao agricultor que a área seria dividida em duas, sendo que em uma delas seria utilizado esterco na proporção de 2 kg por metro linear e na outra área não seria usada adubação de qualquer tipo. Em Montadas, o campo de multiplicação foi cultivado milho da variedade Jabotão em consórcio com fava Cara Larga em área total de 3.870 m<sup>2</sup>.

Os demais métodos culturais adotados foram: utilização de cobertura morta de culturas anteriores; capinas manuais; utilização de biofertilizantes (adubo orgânico líquido produzido anaerobicamente a partir de uma mistura de

materiais orgânicos - esterco, frutas, leite, macro e micronutrientes e água), o qual também foi utilizado no controle de pragas e doenças; pulverização com extrato de nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Spodoptera frugiperda*. Quando as plantas encontravam-se no estágio de maturação, ou seja, o milho verde (ponto de pamonha), realizou-se uma reunião juntamente com a Rede de Sementes da Paraíba em formato de Dia de Campo para a avaliação do campo, o qual contou com a participação de cerca de 20 agricultores (as) e técnicos da ONG ASPTA no campo de Alagoa Nova, quando se realizou a avaliação. Para a avaliação foram estabelecidos os parâmetros qualitativos: estatura da planta do milho e tamanho da espiga de milho. Sendo assim, agricultores foram divididos em grupos, os quais atribuíram notas para cada uma das características nas duas áreas (com e sem esterco), utilizando a seguinte escala de notas: 0 - péssimo; 1 - ruim; 2 - regular; 3 - bom; 4 - muito bom e; 5 - ótimo. A pesquisa realizada foi de caráter qualitativo (Almeida, 1989), onde os agricultores (as) ficaram livres para informarem seus critérios, com mínima interferência possível dos técnicos, favorecendo o diálogo de saberes entre todos os presentes. Neste sentido buscou-se explorar o aspecto das opiniões e não o número de opiniões, como ressaltam Bauer e Gaskel (2002). Outro parâmetro de avaliação utilizado foi de produção, no qual foi quantificada utilizando como parâmetro o peso das sementes após sua debulha.

## Resultados e Discussão

O ano de 2012, na região Nordeste, especialmente na Paraíba, os agricultores familiares passaram pela maior seca dos últimos 30 anos causando grandes perdas nos seus sistemas produtivos. Tradicionalmente os agricultores familiares no estado da Paraíba costumam preparar suas terras para início da semeadura a partir do mês de março, época que normalmente ocorrem às primeiras precipitações (a esperada chuva do dia de São José), pelo fato de plantarem em condições de sequeiro. No entanto, as chuvas em março não ocorreram. Apenas em junho ocorreram chuvas satisfatórias, quando foi registrado com auxílio do pluviômetro instalado e aferido pelos agricultores, 160 mm em Montadas e 213 mm em Alagoa Nova, quando então foram implantados os campos de multiplicação.

Na avaliação qualitativa, na qual se valoriza a percepção dos agricultores,

contando com suas experiências em seus cultivos, estes classificaram o tratamento sem o uso do esterco em relação à estatura da planta como “ruim” e a espiga “regular”, pode-se observar na (Tabela 1). No geral, avaliaram a área sem esterco como nota média regular.

**Tabela 1.** Média da análise qualitativa dos parâmetros, mediante atribuição de notas (0 - péssimo; 1 - ruim; 2 - regular; 3 - bom; 4 - muito bom e; 5 – ótimo), no campo de multiplicação, município de Alagoa Nova –PB , no ano de 2012.

Tratamento	Altura da planta do milho	Tamanho da espiga de milho
Com Esterco	4,00	4,00
Sem Esterco	1,00	2,00
CV (%)	8,26	6,92
Média Geral	16,52	3,73

No tratamento em que foi aplicado esterco sobre os leirões e a utilização de biofertilizante, os agricultores classificaram a estatura do milho e qualidade da espiga como “muito bom”. Esta avaliação dos agricultores levou em consideração que o campo passou por uma longa estiagem tornando-se um fator limitante para produção. A precipitação total em Alagoa Nova durante o trabalho foi de 358 mm, enquanto que em Montadas foi de 228 mm de pluviosidade.

O campo de multiplicação em Alagoa Nova - PB obteve maior produção de feijão, seguido de milho e fava. Segundo o proprietário da área experimental, Sr. José de Oliveira Luna, a relativa boa produção na condição de seca, se deve ao manejo ecológico da terra que vem se fazendo há anos, com a utilização de cobertura morta, o não uso de fogo e a utilização de biofertilizante.

A produção total de sementes em Alagoa Nova que foi de 555 Kg, em uma área total de 3.741 m<sup>2</sup>. Na área que não foi utilizado a adubação orgânica, que totaliza 203 m<sup>2</sup>, a produção de milho foi de 4Kg; de feijão guandu 3 kg e de feijão carioca 10kg.

Portanto, em um hectare obteríamos 1.471,75 Kg de sementes, ou seja, aproximadamente 1,5 ton para o campo com a utilização de adubo orgânico. Na área sem adubação orgânica obteríamos 837 Kg, ou 0,84 ton. O campo com esterco apresentaria 634kg sementes a mais, que o sem adubo orgânico.

Em Montadas, o campo foi mais prejudicado com a estiagem e rendeu apenas 15 Kg de feijão Macassa; 2 Kg de fava Cara larga; e 2 kg de Milho Jaboação na área 3.397 m<sup>2</sup> com adubação orgânica. Estas foram armazenadas no banco comunitário de Montadas de Baixo, localizada na propriedade de Seu Joaquim, proprietário da terra deste campo de multiplicação. Em um determinado período, Seu Joaquim, sentiu a necessidade de retirar a palha do milho e dar para seus animais, pois viu que as espigas não produziram em função da estiagem. A área sem aplicação de esterco não rendeu espigas, como o agricultor relatou.

No decorrer da pesquisa foram monitorados os custos e os lucros da produção dos campos. As despesas com esterco, limpeza no campo, aluguel da máquina de beneficiamento de feijão, formação de leirões com a tração do boi, mão de obra contratada para espalhar o esterco totalizaram R\$ 740,00 reais e a renda bruta totalizou R\$ 2197,66, tendo ao final como receita líquida R\$ 1457,66, em Alagoa Nova. A renda foi estipulada pelos agricultores, simulando o valor obtido em uma suposta venda para feiras agroecológicas do município das sementes produzidas no campo. Porém, todos guardaram as sementes nos bancos para abastecê-los.

Em Montadas, as despesas com esterco bovino, serviço com o preparo do solo, capina totalizaram R\$ 505,00. Todavia, o lucro com a venda da palha e da semente foi de R\$ 243,00. Vale ressaltar, que a elevação do custo de produção se deveu a compra do esterco. Geralmente, agricultores familiares criam seus animais como gado, galinhas e porcos, e podem utilizar sem gasto com a compra de esterco.

No dia de campo, foi perguntando aos agricultores como era o solo antigamente. Seu Paulo Alexandre, agricultor experimentador de Remígio-PB, explicou que na época de seus pais, eles trabalhavam nas terras durante dois anos cultivando alimento de subsistências. Após a colheita, deixavam esta área em pousio ou melhor, deixavam “A terra descansar” enquanto desmatavam outra área para plantio. Não usavam o esterco, pois trabalhavam em terra de senhores de engenho, e caso adquirissem animais teriam que dividir com os “patrões”. E também não sabia da importância do esterco que juntavam nos currais.

O Sr. Joaquim Santana, proprietário do campo de Montadas, disse como era a terra antigamente na época dos seus pais:

*Nos tempos dos nossos pais já era fraco, mas tinha alguma coisa que era forte. Com os tempos as famílias foram crescendo e foram ocupando o solo que fez o solo da região de Montadas se afracar. E povo achava que a terra não deveria ser alimentada.*

Os dois agricultores disseram que antigamente não tinham consciência sobre o cuidado do solo e o uso do esterco, mas que após ter frequentado reuniões, intercâmbios, oficinas junto ao Sindicato Rural e ONG AS-PTA passaram a se preocupar com a saúde do solo e tentam repassar para seus vizinhos e família a importância deste.

## Conclusões

Conclui-se que os campos de multiplicação de sementes crioulas é uma ferramenta importante para estimular os agricultores a usarem o esterco. No ano de 2013, o Sr. Joaquim e seu Zé Pequeno implantaram novamente o campo da mesma forma, sem auxílio técnico formal, não apresentando dificuldades em continuar o processo. Como resultado, os campos dois apresentam mais vigorosos pelo acúmulo de esterco dos outros anos.

Uma das metodologias utilizadas, o intercâmbio, foi responsável pela reflexão feita das experiências pelos próprios agricultores envolvidos, onde juntos possibilitaram a troca de experiências, discussões onde propõem inovações agroecológicas, sendo um grande impacto positivo para a pesquisa.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida e à ONG AS-PTA pelo auxílio na execução das atividades.



## Referências

ALMEIDA, P.; CORDEIRO, A. **Semente da Paixão: estratégias comunitárias de conservação de variedades locais no semi-árido**. 1. ed. Rio de Janeiro: AS-PTA, 2002. v. 1. 72 p.

BAUER, M. W.; GASKELL, G. **Pesquisa qualitativa contexto, imagem e som: um manual prático**. Petrópolis, RJ. Vozes, 2002.

# Susceptibilidade de Variedades Copa e Porta-enxerto de Citros ao Ácaro-da-falsa-ferrugem (*Phyllocoptruta oleivora*) (*Acari: Eriophyidae*)

Jéssica Fontes Vasconcelos<sup>1</sup>; Adenir Vieira Teodoro<sup>2</sup>

## Resumo

O ácaro-da-falsa-ferrugem (*Phyllocoptruta oleivora*) é a principal praga de citros no mundo, e no Brasil está presente nas principais regiões produtoras, sendo considerado praga-chave em São Paulo e a mais importante praga em Sergipe. A resistência de plantas é um método alternativo de controle utilizado no manejo integrado de pragas e por ser um conceito hipotético, a medição do grau de resistência é relativa e sempre baseada na comparação entre genótipos. Em função de suas características genéticas, variedades copa e porta-enxerto de citros podem responder diferentemente ao ataque de pragas como o ácaro-da-falsa-ferrugem. O objetivo deste trabalho foi determinar o grau de susceptibilidade de variedades copa e porta-enxerto de citros ao ácaro-da-falsa-ferrugem de forma a dar subsídios ao manejo integrado desta praga no estado de Sergipe.

**Palavras-chave:** citricultura, praga, susceptibilidade.

<sup>1</sup> Graduanda de Agronomia da Universidade Federal de Sergipe, Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju - SE, [jssica\\_fontes@yahoo.com.br](mailto:jssica_fontes@yahoo.com.br).

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, [adenir.teodoro@embrapa.br](mailto:adenir.teodoro@embrapa.br).

## Introdução

A citricultura é uma das atividades agrícolas mais importantes do estado de Sergipe, principalmente na região Centro-Sul (IBGE, 2009). A Embrapa Tabuleiros Costeiros, em parceria com a Embrapa Mandioca e Fruticultura e a Emdagro, está pesquisando novas variedades copa e porta-enxerto de citros para o estado de Sergipe, no entanto, não existem estudos sobre sua susceptibilidade a pragas. Diferentes genótipos de plantas respondem de forma específica ao ataque de pragas e a resistência de plantas é um método alternativo de controle utilizado no manejo integrado de pragas (GALLO et al., 2002).

O ácaro-da-falsa-ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* é considerado a principal praga de citros no mundo (MCCOY, 1996). No Brasil, o ácaro está presente nas principais regiões produtoras de citros, sendo considerado praga chave em São Paulo e a mais importante praga em Sergipe, causando danos consideráveis à produção (MORAES; FLECHTMANN, 2008; MENDONÇA; SILVA, 2009). Diferentes variedades copa e porta-enxerto de citros podem responder diferentemente ao ataque do ácaro-da-falsa-ferrugem em função da susceptibilidade e/ ou precocidade inerente a cada material. No entanto, experimentos específicos de determinação da resistência de variedades copa e porta-enxerto de citros ainda precisam ser conduzidos para materiais que estão sendo pesquisados para a região dos tabuleiros costeiros. Portanto, o presente trabalho teve por objetivo determinar o grau de susceptibilidade de variedades copa e porta-enxerto de citros ao ácaro-da-falsa-ferrugem de forma a dar subsídios ao manejo integrado desta praga nos Tabuleiros Costeiros.

## Material e Métodos

Os experimentos foram implantados em 2008 no campo experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros em Umbaúba - SE, objetivando a seleção de variedades copa e porta-enxerto para a região dos tabuleiros costeiros. O primeiro experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados com laranja Pêra enxertada sobre 10 variedades porta-enxerto (tratamentos) e quatro repetições (blocos). Cada parcela possui três plantas úteis e as 10 variedades porta enxerto são: HTR-051, Limão Rugoso Balão, Tângelo Orlando, TSK TRENG 264, Limão Cravo Santa Cruz, TSKFL CCTR 017, LVK LCR 10, TSK TRENG 256, TSK CTTR 002, Citrumelo Swingle. Foram amostradas apenas as plantas centrais de cada

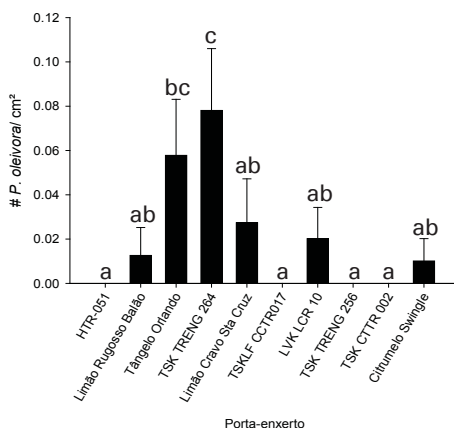
variedade porta-enxerto (totalizando 40 plantas) por avaliação.

O segundo experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados com 20 variedades copa (tratamentos) enxertados sobre porta-enxerto de limão cravo e quatro repetições (blocos). Cada parcela possui três plantas úteis e as 20 variedades copa são: Laranja Kona, Laranja Rubi, Laranja Natal 112, Laranja Valência Monte Morellos, Laranja Lima, Laranja Pêra D6, Tangerina Murcott, Tângelo Nova, Tângelo Page, Limão Tahiti CNPMF01, Tangerina Piemonte, L. L. Succory Acidless, Laranja Lima Verde, Limão Tahiti CNPMF02, Limão Tahiti 5059, Limão Tahiti IAC 5, Limão Tahiti 5-1, Limão Tahiti 2001, Persian Lime 58, Bearss Lime. Foram amostradas apenas as plantas centrais de cada parcela de cada variedade copa (totalizando 80 plantas) por avaliação.

As avaliações da população do ácaro-da-falsa-ferrugem foram realizadas mensalmente, durante 15 meses, por meio da inspeção de frutos a partir de 2cm de diâmetro das variedades copa e porta-enxerto de citros com o auxílio de uma lupa de bolso 30x com área delimitada de 1 cm<sup>2</sup>. Para cada planta, os ácaros foram contados em dois frutos escolhidos ao acaso e localizados na parte externa, região de maior ataque do ácaro-da-falsa-ferrugem (Silva; Mendonça, 2009). Apenas adultos foram contados haja vista que os estádios de ovo, larva e ninfa são de difícil visualização com lupa de bolso. Análises de variância para medidas repetitivas foram conduzidas para avaliar a densidade populacional de *P. oleivora* em diferentes variedades porta-enxerto e copa de citros de maio de 2012 a agosto de 2013.

## Resultados e Discussão

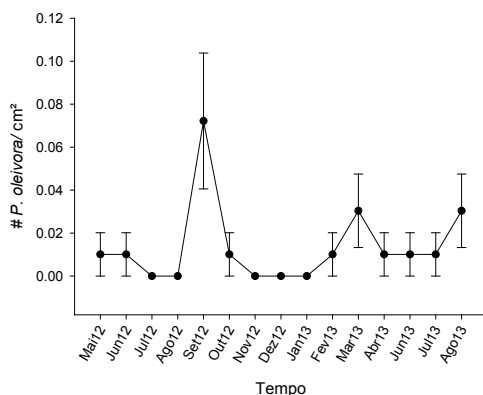
Menores populações do ácaro-da-falsa-ferrugem *P. oleivora* ocorreram nas combinações de laranjeira Pêra com os porta-enxertos HTR - 051, Limão Rugoso Balão, Limão Cravo Santa Cruz, TSKLF CCTR017, LVK LCR 10, TSK TRENG 256, TSK CTTR 002 e o Citrumelo Swingle em comparação com a combinação com TSK TRENG 264 (Figura 1).



**Figura 1.** Médias + EP do ácaro-da-falsa-ferrugem *P. oleivora*/ cm<sup>2</sup> em frutos de laranja Pêra enxertada em diferentes variedades de porta-enxertos de citros.

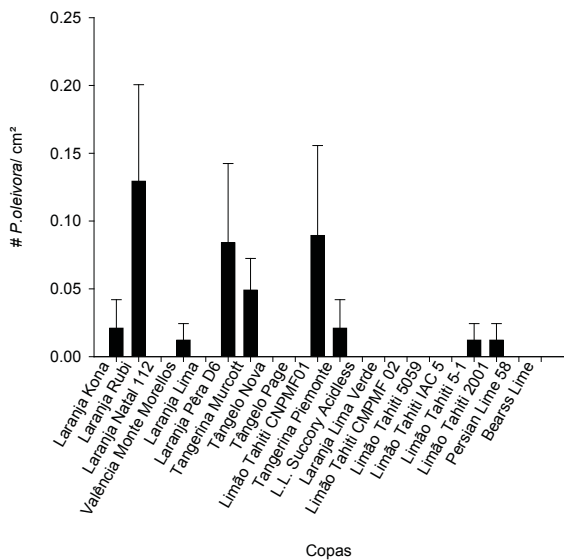
$F_{9,30}=2,667$ ;  $P=0,020$ . ANOVA para medidas repetidas, Fisher  $P<0,05$ . Dados transformados em  $\log x + 1$ .

Foi observado um nível intermediário de populações do ácaro-da-falsa-ferrugem na combinação de laranja Pêra com o porta-enxerto Tângelo Orlando (Figura 1;  $F_{9,30}=2,667$ ;  $P=0,020$ ). Tais resultados indicam que existe um grau de resistência diferenciado entre os porta-enxertos citrícos analisados, pois os mesmos interferiram nos níveis populacionais do ácaro-da-falsa-ferrugem em frutos de laranja Pêra. Foi observado um pico populacional mais pronunciado do ácaro-da-falsa-ferrugem no mês de setembro de 2012 em comparação com os demais meses avaliados (Figura 2;  $F_{9,270}=1,969$ ;  $P<0,043$ ).

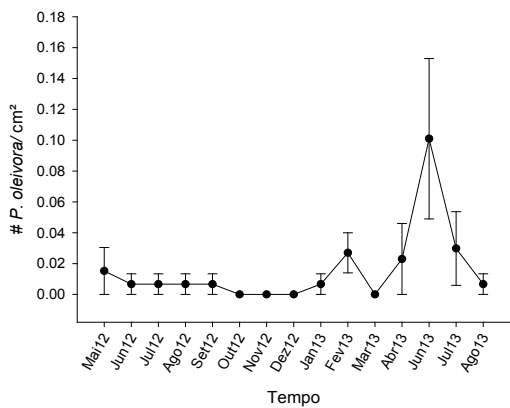


**Figura 2.** Médias + EP do ácaro-da-falsa-ferrugem *P. oleivora*/ cm² em frutos de laranja Pêra enxertadas em diferentes variedades de porta-enxertos de citros ao longo do tempo.  $F_{9, 270} = 1,969$ ;  $P = 0,043$ . ANOVA para medidas repetidas, Fisher  $P < 0,05$ . Dados transformados em  $\log x + 1$ .

Fatores ambientais como temperatura e umidade relativa elevadas, estão, geralmente, relacionados ao aumento populacional do ácaro-da-falsa-ferrugem (SILVA; MENDONÇA, 2009; MORAES; FLECHTMANN, 2008). Não houve interação entre os porta-enxertos e o tempo na população do ácaro-da-falsa-ferrugem em laranja Pêra ( $F_{81,270} = 1,185$ ,  $P = 0,16$ ). Diferentes combinações de variedades copas de citros com o porta-enxerto de limão cravo não influenciaram as populações do ácaro-da-falsa-ferrugem *P. oleivora* (Figura 3;  $F_{19,40} = 0,925$ ;  $P = 0,558$ ). O maior pico populacional do ácaro-da-falsa-ferrugem foi encontrado no mês de junho de 2013 em comparação com os demais meses (Figura 4;  $F_{10,400} = 2,056$ ;  $P = 0,026$ ). Não houve interação entre as variedades copa e o tempo ( $F_{190,400} = 0,939$ ,  $P = 0,686$ ).



**Figura 3.** Médias + EP do ácaro-da-falsa-ferrugem *P. oleivora*/ cm<sup>2</sup> em diferentes variedades copa de citros.  $F_{19,40} = 0,925$ ;  $P = 0,558$ . ANOVA para medidas repetidas. Dados transformados em  $\log x + 1$ .



**Figura 4.** Médias + EP do ácaro-da-falsa-ferrugem *P. oleivora*/ cm<sup>2</sup> em diferentes variedades copa de citros.  $F_{10,400} = 2,056$ ;  $P = 0,026$ . ANOVA para medidas repetidas, Fisher  $P < 0,05$ . Dados transformados em  $\log x + 1$ .

## Conclusões

Conclui-se que os porta-enxertos HTR - 051, Limão Rugoso Balão, Limão Cravo Santa Cruz, TSKLF CCTR017, LVK LCR 10, TSK TRENG 256, TSK CTTR 002 e o Citrumelo Swingle relacionaram-se a uma menor susceptibilidade de frutos de laranjeira Pêra ao ácaro-da-falsa-ferrugem *P. oleivora* em comparação com o porta-enxerto TSK TRENG 264. Variedades copas enxertadas em limão cravo não influenciaram a população do ácaro-da-falsa-ferrugem. A população do ácaro variou sazonalmente ao longo do período de avaliação.

## Referências

IBGE. **Produção agrícola municipal**. 2009. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 10/08/2013.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA G. C.; BERT FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002. 920 p.

MCCOY, C. W. Damage and control of Eriophyoid mites in crops. Styelar feeding injury and control of eriophyoid mites in citrus. In: LINDQUIST, E. E.; SABELIS, M. W.; BRUIN, J. (Org.). **Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, , 1996. p. 513-526.

MENDONÇA, M. C.; SILVA, L. M. S. da. Pragas dos citros. In: **Manual do manejador fitossanitário dos citros**. SILVA, L.M.S da; MENDONÇA, M. C. (Ed.). Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009., p. 19-41.

MORAES, G. J. de; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2008. 308 p.



# Obtenção de Parâmetros para Simulação Hidrológica na Bacia do Rio Japaratuba por meio de Geotecnologias

*Rafael Rodrigues de Souza Silva<sup>1</sup>; Marcus Aurélio Soares Cruz<sup>2</sup>*

## Resumo

A gestão dos recursos hídricos pressupõe o conhecimento da bacia hidrográfica e de seus diferentes processos interrelacionados, incluindo uso da terra, atividades econômicas, usos da água, climatologia, dentre outros. A referência espacial deve ser utilizada como variável integradora na organização da informação. Assim, este trabalho apresenta a base de dados do Projeto Japaratuba, desenvolvido pela Embrapa Tabuleiros Costeiros e diversos parceiros, organizada com fins de subsidiar modelagem hidrológica na forma de um sistema que possibilite a consulta rápida à informação organizada espacialmente na bacia, funcionando como mais uma ferramenta de suporte à tomada de decisão por parte dos órgãos públicos e comitês de bacia.

**Palavras-chave:** base de dados, sistema de informação geográfica, Quantum-GIS.

---

<sup>1</sup> Bacharelando em Geografia, Bolsista Fapitec, , Aracaju, SE, maximusrss@hotmail.com.

<sup>2</sup> Engenheiro-civil, Doutor em Recursos Hídricos, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marcus.cruz@embrapa.br.

## Introdução

A gestão dos recursos hídricos preconiza, por meio de sua lei maior no país, a L.C. 9433/1997, a bacia hidrográfica como sua unidade de planejamento e sobre a qual devem ser aplicados os instrumentos da política nacional de gerenciamento dos recursos hídricos. Ocorre que se observa ainda no Brasil uma carência significativa de fontes de informações organizadas e georreferenciadas. A bacia do Rio Japaratuba, apesar de apresentar baixa disponibilidade hídrica, possui uma importância estratégica para o estado de Sergipe, abrigando o maior campo petrolífero terrestre do país, o campo de Carmópolis, com mais de 150 km<sup>2</sup> e 1.200 poços, fazendo uso da porção inferior do Rio Japaratuba para o despejo das águas residuárias do processo de exploração, causando alterações significativas na biota do rio. Com uma tendência histórica às atividades agropecuárias, centradas inicialmente na criação bovina, a bacia do Rio Japaratuba vem apresentando alterações crescentes de usos de suas terras, com retiradas de matas ciliares e substituição de antigas pastagens por culturas agrícolas, principalmente cana-de-açúcar (SERGIPE, 2011). Os aspectos listados apenas embasam o alto grau de dificuldade do gerenciamento do uso da água na bacia, ressaltando a importância de reunir e organizar um conjunto de informações dispersas em diferentes fontes que forneçam mecanismos para interpretações por parte do poder público, comitê de bacia e população interessada. Este trabalho apresenta uma base de dados organizada na forma de Sistema de Informação Geográfica – SIG, resultado de um projeto de dois anos e meio desenvolvido pela Embrapa Tabuleiros Costeiros e diversos parceiros, que tem a intenção de subsidiar o desenvolvimento de políticas públicas voltadas para a conservação dos recursos hídricos na bacia do Rio Japaratuba.

## Material e Métodos

A bacia do Rio Japaratuba localiza-se entre as coordenadas geográficas 37°19'O, 10°13'S e 36°47'O, 10°47'S, sendo a menor bacia das principais em extensão territorial, com cerca de 1.700 km<sup>2</sup>, o que representa aproximadamente 7,8% da área do Estado de Sergipe e é totalmente contida pelos limites deste. O Rio Japaratuba tem aproximadamente 92 km de

extensão, nasce na Serra da Boa Vista, na divisa entre os municípios de Feira Nova e Graccho Cardoso, e deságua no Oceano Atlântico, no município de Pirambu (SERGIPE, 2011). O projeto “Aplicação de ferramentas de geoprocessamento e de modelagem matemática na avaliação dos impactos ambientais decorrentes das atividades antrópicas na bacia do Rio Japaratuba, em Sergipe”, foi coordenado pela Embrapa Tabuleiros Costeiros e contou com vários parceiros, como: Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio Japaratuba, Universidade Federal de Sergipe, Instituto Tecnológico de Pesquisas do Estado de Sergipe, Prefeitura de Cumbe e Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos, por meio da Superintendência de Recursos Hídricos. Este projeto realizou um estudo na bacia do Rio Japaratuba, através da coleta de amostras e análise de variáveis de qualidade da água em diferentes pontos do rio, utilização de geotecnologias para a caracterização da bacia e organização de banco de dados e simulações de cenários de uso solo na bacia através do modelo SWAT, buscando correlacionar os impactos observados com as atividades desenvolvidas na bacia. Durante o seu desenvolvimento, foram realizadas oficinas participativas com apoio do Comitê da Bacia do Rio Japaratuba com vistas à aplicação de diagnósticos participativos e elaboração de estratégias de ações de mitigação de impactos ambientais. O produto final do projeto foi uma base de dados interativa que se constituiu na sistematização e organização de toda a informação levantada e produzida na bacia reunindo os resultados do projeto e disponibilizando as informações georreferenciadas em formato shapefile, por meio de um SIG gratuito, o Quantum GIS. Também estão armazenados nesta publicação os documentos produzidos durante a realização do estudo, incluindo relatórios técnicos e artigos apresentados em eventos científicos. A seguir são descritas as informações contidas no sistema e suas principais funcionalidades.

## Resultados e Discussão

A Base de Dados do Projeto Japaratuba apresenta, dentre outros módulos, um para o SIG propriamente dito e outro para impressão de mapas. O SIG executado por meio do Quantum GIS possui as seguintes camadas de informações:

- Altimetria: modelo digital de elevação com resolução 90 m, total e com recortes por sub-bacias contribuintes aos postos fluviométricos da bacia (EMBRAPA, 2005).
- Atividades econômicas: localização espacial e descrição das atividades econômicas desenvolvidas na bacia com potencial de atuação sobre os recursos hídricos.
- Regiões climáticas.
- Declividade: total e recortes por sub-bacias.
- Divisão Política: municípios e sedes municipais;
- Estações fluviométricas: cinco estações mantidas pela Agência Nacional de Águas.
- Geologia: classificação geológica (CPRM, 2001).
- Geomorfologia: unidades de paisagem (EMBRAPA SOLOS, 2000).
- Gestão dos recursos hídricos: unidades de planejamento, outorgas (SERGIPE, 2011) e áreas contribuintes (permite a determinação das áreas de sub-bacias em qualquer curso d'água com área de contribuição superior a 1 km<sup>2</sup>).
- Hidrografia: principais e principais acrescidos dos secundários (SERGIPE, 2011).
- Imagens de satélite: SPOT ano 2005 (SERGIPE, 2011), LANDSAT ano 2009 (INPE, 2011); ALOS ano 2010.
- Limites de bacias: vetores limites da bacia completa e sub-bacias contribuintes aos postos fluviométricos.
- Qualidade da água: superficial, período seco e úmido, incluindo parâmetros físico-químicos, biológicos, agroquímicos e índices de qualidade das águas; subterrânea (RESENDE et al., 2009).
- Pluviometria: postos pluviométricos, e distribuição espacial de chuvas médias mensais e anuais.
- Sedimentos: quantidades produzidas (EUPS), parâmetros físicos, químicos, metais, orgânicos e agroquímicos, em período seco e úmido.

- Socioeconomia: por município segundo setores censitários (IBGE, 2010) – população total e na bacia, densidade populacional total e na bacia, IDH, PIB total e per capita.
- Solos: classificação dos solos na bacia segundo Santos (2006).
- Uso da terra: classificação de uso da terra segundo USGS para 2010.
- Vulnerabilidade a perda de solo: aplicação da metodologia de Crepani (2001).

Espera-se que a Base de dados do projeto Japaratuba permita aos interessados, como técnicos, pesquisadores, estudantes, dentre outros, terem um acesso facilitado a informações para alimentação de modelos matemáticos que auxiliem a tomada de decisão relacionada aos processos de aproveitamento hídrico na bacia, contribuindo para uma melhor gestão das águas e difundindo a cultura de preservação dos recursos naturais.

## Conclusões

A aplicação de geotecnologias proporcionou juntamente com as coletas de informações através de: oficinas, pesquisas, estudos, coleta de amostras e análise de variáveis de qualidade da água; uma base de dados organizada na forma de sistema de informações geográficas que se apresentou eficiente através de um sistema que possibilite uma consulta rápida à informação organizada espacialmente da bacia do Rio Japaratuba.

## Agradecimentos

Nossos agradecimentos à Embrapa Tabuleiros Costeiros (Laboratório de Geotecnologias Aplicadas/LABGEO), ao Comitê da Bacia do Rio Japaratuba e à FAPITEC pela oportunidade de participar como bolsista do Projeto Japaratuba.

## Referências

CPRM. Programa Levantamentos Geológicos Básicos do Brasil – PLGB. **Geologia e recursos minerais do Estado de Sergipe**. Escala 1:250.000. 2001.

EMBRAPA. **Brasil em relevo**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2005.

EMBRAPA SOLOS. **Zoneamento agroecológico do nordeste do Brasil: diagnóstico e prognóstico**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2000. (Embrapa Semiárido. Documentos, 14).

IBGE. **Censo Demográfico 2010**. Brasília, DF, 2010.

RESENDE, R. S.; CRUZ, M. A. S.; AMORIM, J. R. A. **Atlas de qualidade da água subterrânea no Estado de Sergipe com fins de irrigação**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; OLIVEIRA, J. B. de; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. (Ed.). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.

SERGIPE. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e dos Recursos Hídricos. **Atlas de recursos hídricos do Estado de Sergipe**. Aracaju, 2011.

# Uso do Sêmen Criopreservado de Tambaqui no Processo de Reprodução Artificial

***Evelyn da Silva Santos<sup>1</sup>; Giselle Santana Barreto<sup>1</sup>; Carlos Adriano Silva Rocha Moraes<sup>1</sup>; Allan Charles Marques de Carvalho<sup>2</sup>; Jadson Pinheiro Santos<sup>3</sup>; Rafael Venâncio Araújo<sup>4</sup>; Alexandre Nízio Maria<sup>5</sup>; Paulo César Falanghe Carneiro<sup>6</sup>***

## Resumo

Atualmente existem poucos estudos que possam nos fornecer dados pertinentes em relação aos protocolos de criopreservação e reprodução artificial de peixes. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a utilização do sêmen congelado de tambaqui para reprodução artificial. Foram utilizadas amostras seminais de seis reprodutores e duas fêmeas de tambaqui *Colossoma macropomum* como um. Foram avaliados parâmetros de cinética e fertilização tais como: motilidade total (MT; %), velocidade curvilínea (VCL;  $\mu\text{m.s}^{-1}$ ), velocidade linear progressiva (VSL;  $\mu\text{m.s}^{-1}$ ) e velocidade média da trajetória (VAP;  $\mu\text{m.s}^{-1}$ ). Para esta avaliação foi utilizado o software Sperm Class analyser (SCA<sup>®</sup>) acoplado a um microscópio óptico. As amostras foram avaliadas nos momentos 2, 4 e 6 horas para verificar o tempo de viabilidade da utilização do sêmen criopreservado. Para a fertilização foram testadas as seguintes relações espermatozoides:ovócito: 50.000:1, 100.000:1, 250.000:1, 500.000:1 e ativação com três soluções:  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{NaCl}$  e a água do tanque. Os melhores valores da cinética espermática foram observados ao se utilizar as soluções de  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{NaCl}$  e para os valores de velocidades (VCL,

<sup>1</sup> Graduando do curso de Engenharia de Pesca, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, evelyn\_sill@hotmail.com.

<sup>2</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE.

<sup>3</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE.

<sup>4</sup> Zootecnista, pós-doutorando FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>5</sup> Zootecnista, Doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>6</sup> Engenheiro-agrônomo, Doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

VSL e VAP), apontando o  $\text{NaHCO}_3$  como melhor ativador para todos os parâmetros avaliados. As maiores taxas para fertilização foram obtidas com os ativadores NaCl e  $\text{NaHCO}_3$  nas relações espermatozoides:ovócito 250.000:1 e 500.000:1. Os ativadores NaCl 230 mOsm/kg e  $\text{NaHCO}_3$  230 mOsm/kg apresentaram-se como mais adequados, permitindo o uso de relação espermatozoide:ovócito entre 100.000 e 250.000:1 de acordo com os parâmetros de cinética e fertilização avaliados.

**Palavras-chave:** criopreservação, *colossoma macropomum*, cinética espermática, fertilização, sêmen criopreservado.

## Introdução

Os estudos sobre a reprodução artificial de peixes estão relacionados a várias questões atuais tais como: aumento do crescimento populacional e consequentemente da demanda por alimentos, a sobreexploração dos recursos pesqueiros e também a deficiência de dados no setor aquícola. O aprimoramento das técnicas de reprodução de peixes comerciais também visa atingir uma produção maior e um melhor resultado final aumentando a taxa de sobrevivência de peixes e alevinos, ocasionando em bons lucros ao produtor.

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie nativa migratória da região amazônica de grande importância econômica para a piscicultura devido à grande demanda que o mercado atual exerce para produção comercial dessa espécie (CARNEIRO, 2007). Peixes migratórios não apresentam capacidade de desovar em ambientes lênticos, devido à falta de qualidades ambientais adequadas para a reprodução, como migração, profundidade ou corredeiras (MYLONAS et al., 2010 citado por SOLIS-MURGAS et al., 2011).

Portanto, a reprodução artificial dos seus ciclos reprodutivos demonstra ser uma técnica eficaz para induzir a desova e a espermiacção dos peixes, ocasionando numa reprodução dos mesmos em qualquer momento desejado e em condições de cativeiro. As características seminais são muito variadas entre as espécies de peixes, e a sua avaliação é de grande importância para o estabelecimento da fertilização artificial (SOLIS-MURGAS et al., 2011). Para a descrição de um perfil espermático, são analisadas as características físicas



do sêmen (volume, motilidade, vigor e concentração) e as características morfológicas dos espermatozoides (ROUTRAY et al., 2007 citado por SOLIS-MURGAS et al., 2011 ). É necessário o conhecimento desses valores para que se possa avaliar a qualidade do sêmen coletado e, com isso, otimizar sua utilização no processo de fertilização artificial (VIVEIROS, 2005).

A criopreservação do sêmen é uma biotécnica que permite conservar as células espermáticas sob baixas temperaturas, mantendo sua viabilidade por tempo indeterminado, possibilitando a redução de gastos com o transporte de peixes adultos e o armazenamento e conservação de material genético para uso imediato ou futuro (MARIA et al., 2009). Alguns estudos têm testado protocolos de criopreservação do sêmen de tambaqui, porém há pouca informação sobre o seu emprego nos procedimentos de fertilização artificial (LEITE, 2011; VARELA-JUNIOR et al., 2012). Portanto, o presente estudo se torna essencial visando à obtenção de um protocolo prático para a utilização de sêmen criopreservado na fertilização artificial.

## Material e Métodos

Foram utilizadas amostras seminais de seis reprodutores e duas fêmeas de tambaqui *Colossoma macropomum*. Os machos foram induzidos hormonalmente com 2,0 mg de extrato bruto de hipófise/kg de peso vivo e dez horas depois, o sêmen foi coletado por massagem abdominal. Após a coleta, as alíquotas de sêmen foram ativadas com  $\text{NaHCO}_3$  para avaliar motilidade subjetiva dos espermatozoides em microscópio óptico (400x), e selecionadas as amostras seminais que apresentaram motilidade superior a 80%. A indução hormonal das fêmeas deu-se por meio da aplicação de duas doses de extrato bruto de hipófise/kg de peso vivo (0,5 e 5 mg/kg peso corporal) em intervalo de 12 horas. Dez horas depois da última dose, os ovócitos foram extraídos por massagem abdominal.

As amostras de sêmen foram criopreservadas de acordo com o protocolo proposto por Maria et al. (2011). Foram então diluídas em solução de congelamento que continha glicose, metilglicol e gema de ovo, na proporção 1:9 (sêmen:solução). O sêmen foi envasado em palhetas que foram congeladas

em botijão de vapor de nitrogênio líquido (*dry-shipper*) e transferidas para um botijão de nitrogênio líquido ( $-196^{\circ}\text{C}$ ). No descongelamento as palhetas foram imersas em banho-maria a  $60^{\circ}\text{C}$  por 8 segundos para o processo de descongelamento e, em seguida, mantidos em refrigerador a  $4-6^{\circ}\text{C}$  durante a análise da cinética espermática. Foram consideradas adequadas para utilização nos experimentos as amostras que apresentaram motilidade espermática superior a 50%.

### Experimento parte 1

*Ativação* de alíquotas de sêmen com três soluções diferentes: bicarbonato de sódio  $230\text{ mOsm.kg}^{-1}$ , cloreto de sódio  $230\text{ mOsm.kg}^{-1}$  ou água do tanque de contenção dos reprodutores ( $12\text{ mOsm/kg}$ ) e transferidas para uma câmara *Makler*®, sendo todo o processo realizado 10 segundos após a ativação. As avaliações foram feitas automaticamente a cada cinco segundos até completar um total de 10 avaliações. Para esta avaliação foi utilizado o software *Sperm Class Analyser (SCA*®) acoplado a um microscópio óptico. Os parâmetros avaliados foram: motilidade total (MT; %), *velocidade curvilínea* (VCL;  $\mu\text{m/s}$ ), *velocidade linear progressiva* (VSL;  $\mu\text{m/s}$ ) e *velocidade média da trajetória* (VAP;  $\mu\text{m/s}$ ). Os dados foram submetidos à análise de variância e, em caso de diferença significativa, foi aplicada a análise de regressão, ambos a 5% de significância, pelo software estatístico SISVAR.

### Experimento parte 2

As amostras descongeladas foram novamente avaliadas nos momentos 2, 4 e 6 horas para verificar o tempo de viabilidade da utilização do sêmen criopreservado após o descongelamento. Adotou-se o delineamento experimental em blocos casualizados (6 blocos = 6 reprodutores), a primeira parte em esquema fatorial  $10 \times 3$  (tempo pós-ativação x soluções ativadoras) em triplicata para cada tratamento. A segunda parte feita em esquema fatorial  $4 \times 3$  (horas pós-descongelamento x soluções ativadoras) com triplicata para cada tratamento.

### Fertilização dos ovócitos com sêmen descongelado

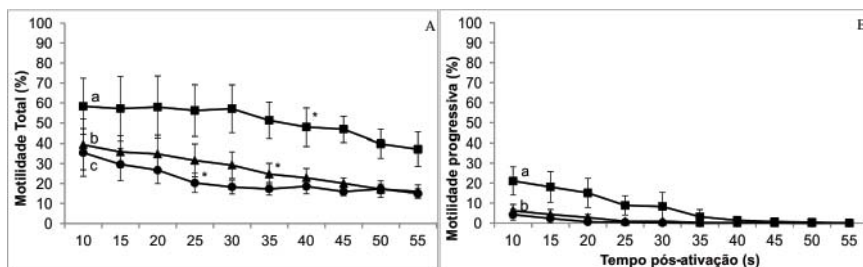
As amostras avaliadas na parte 1 do experimento foram descongeladas e foi realizada a avaliação da cinética espermática e a extração e quantificação dos ovócitos da fêmea. A fertilização foi realizada adicionando alíquotas de 0,5 mg de ovócitos em recipiente plástico e foram testadas as seguintes relações

espermatozoides:ovócito: 50.000:1, 100.000:1, 250.000:1 e 500.000:1. A avaliação e ativação da motilidade deu-se através da adição de 5 mL dos ativadores:  $\text{NaHCO}_3$  230 mOsm.kg<sup>-1</sup>, NaCl 230 mOsm.kg<sup>-1</sup> ou água do tanque de contenção dos reprodutores (12 mOsm.kg<sup>-1</sup>). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 4x3 (relações espermatozoides:ovócito x soluções ativadoras) com quatro repetições em cada tratamento. Após fertilização, os ovos foram transferidos para incubadoras. O cálculo para taxa de fertilização foi realizado 8 horas após a fertilização e taxa de eclosão 14 horas após a fertilização.

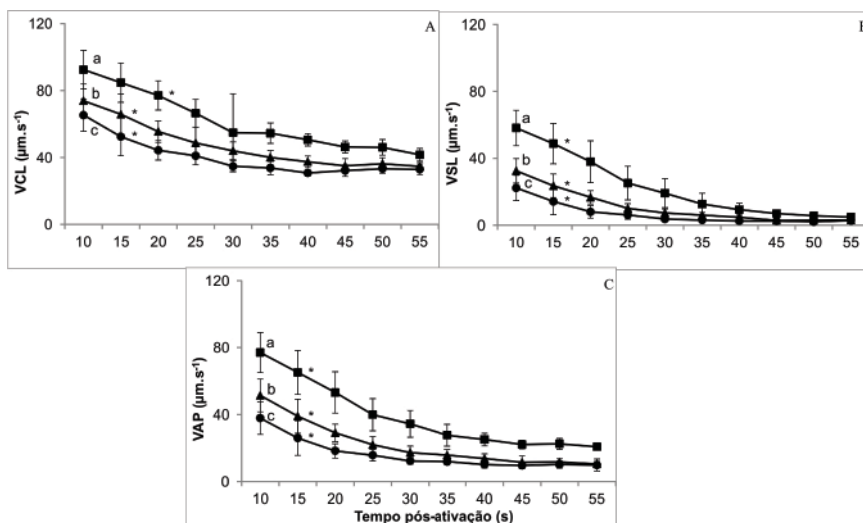
## Resultados e Discussão

A MT do sêmen descongelado não foi alterada por até 35 s após a ativação com  $\text{NaHCO}_3$  e o valor da MT e MP do sêmen ativado com  $\text{NaHCO}_3$  se apresenta superior ( $P < 0,05$ ) a todos os demais tratamentos em todo o tempo avaliado (Figura 1). O mesmo para os valores de velocidades (VCL, VSL e VAP), apontando o  $\text{NaHCO}_3$  como melhor para todos os parâmetros avaliados (Figura 2).

Os melhores valores da cinética espermática foram observados ao se utilizar as soluções de  $\text{NaHCO}_3$  e NaCl. Essa relação pode ser justificada pelo fato das osmolaridades registradas para estas soluções (230 mOsm/kg) ser ligeiramente inferior a osmolaridade do plasma seminal de tambaqui ( $260.0 \pm 7.3$  mOsm/kg) como descrito por Maria et al. (2010).



**Figura 1.** MT (A) e progressiva (B) do sêmen descongelado de tambaqui ativado com as soluções (■- NaHCO<sub>3</sub>, ▲- NaCl e ●- água de tanque) e avaliado durante 55 segundos pós-ativação. Letras minúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de *Skott-Knott* ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e dentro de cada tempo. \* indica diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao valor em 10 s.



**Figura 2.** Velocidade curvilinear - VCL (A), velocidade em linha reta - VSL (B) e velocidade da trajetória média - VAP (C) do sêmen descongelado de tambaqui, ativado com diferentes soluções (■- NaHCO<sub>3</sub>, ▲- NaCl e ●- água de tanque) e avaliado durante 55 segundos pós-ativação. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de *Skott-Knott* ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e dentro de cada tempo.

Fertilização de ovócitos de tambaqui com sêmen descongelado

Os resultados da água do tanque se apresentaram inferiores quando comparada aos outros ativadores para todos os parâmetros de cinética e também na fertilização independente da relação espermatozoides:ovócito testada (Tabela 6). As maiores taxas para fertilização com o sêmen criopreservado foram obtidas com os ativadores NaCl e NaHCO<sub>3</sub> nas relações espermatozoides:ovócito 250.000:1 e 500.000:1.

**Tabela 6.** Taxas de fertilização (média ± desvio-padrão) dos ovócitos de tambaqui fertilizados com sêmen descongelado.

Ativador <sup>1</sup>	Relação espermatozoides: ovócito			
	50.000:1	100.000:1	250.000:1	500.000:1
NaHCO3	48 ± 11 a*	53 ± 10 a*	61 ± 4 a	69 ± 4 a
NaCl	57 ± 6 a*	58 ± 8 a*	69 ± 6 a	61 ± 9 a
Água de tanque	33 ± 4 b	29 ± 7 b	33 ± 4 b	36 ± 1 b

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de *Skott-Knott* ( $p < 0,05$ ); \* Indica diferença significativa pelo teste Skott-Knott ( $p < 0,05$ ) entre as relações espermatozoides:ovócito; <sup>1</sup>Osmolaridade: NaHCO<sub>3</sub> e NaCl = 230 mOsm/kg e água do tanque = 12 mOsm/kg.

As melhores taxas para eclosão obtidas com o sêmen descongelado foram obtidas a partir do uso da solução de NaCl, onde não se observou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as relações espermatozoides:ovócito testadas. Porém com o NaHCO<sub>3</sub>, observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as relações espermatozoides:ovócito, com maior taxa de eclosão na relação 500.000:1. Muitos os trabalhos que desenvolvem protocolos de criopreservação de sêmen focam apenas na avaliação do sucesso da fertilização, muitas vezes utilizando altas relações espermatozoides:ovócito e não levando em consideração a capacidade fecundante das amostras seminais criopreservadas (VIVEIROS et al., 2000).

## Conclusões

Os ativadores NaCl 230 mOsm/kg e NaHCO<sub>3</sub> 230 mOsm/kg apresentam-se como ativadores adequados, permitindo o uso de relação espermatozoide:ovócito entre 100.000 e 250.000:1 de acordo com os parâmetros de cinética e fertilização avaliados.

## Agradecimentos

À Embrapa pela disponibilização do laboratório onde foram realizadas as análises, à Piscicultura Santa Clara pela disponibilização dos reprodutores e à FAPITEC e CNPq pelo apoio financeiro.

## Referências

CARNEIRO, P. C. F. Tecnologias de produção e armazenamento de sêmen de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 361-366, jul./set. 2007.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, Denver, USA, v. 165, p. 516-534, 2010.

SOLIS-MURGAS, L. D.; FELIZARDO, V. O.; FERREIRA, M. R.; ANDRADE, E. S.; VERAS, G. C. Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 2, p. 186-191, abr./jun. 2011.

ROUTRAY, P.; VERMA, D. K.; SARKAR, S. K.; SARANGI, N. Recent advances in carp seed production and milt cryopreservation. **Fish Physiology Biochemistry**, Namur, BE, v. 33, p. 413-427, 2007.

VIVEIROS, A. T. M. **Criopreservação de sêmen de peixes**. In: xvi CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2005.

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; CARNEIRO, P. C. F. Criopreservação de sêmen de peixes no contexto do agronegócio da piscicultura. In: TAVARES-DIAS,

M. (Org.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Amapá: Embrapa Amapá, 2009. v. 1, p. 47-63.

LEITE, L. V. **Dose inseminante, embriogênese e criopreservação de sêmen de tambaqui (*Colossoma Macropomum*)**. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2011.

VARELA-JUNIOR, A. S.; CORCINI, C. D.; GHELLER, S. M. M.; JARDIM, R. D.; LUCIA JUNIOR, T.; STREIT JÚNIOR, D. P.; FIGUEIREDO, M. R. C. Use of amides as cryoprotectants in extenders for frozen sperm of tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Theriogenology**, New York, v. 78, p. 244-251, 2012.

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; CARNEIRO, P. C. F. **Protocolo para criopreservação do sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2011. 8 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Comunicado Técnico, 112).

VIVEIROS, A. T. M.; SO, N.; KOMEN, J. Sperm cryopreservation of African catfish (*Clarias gariepinus*): cryoprotectants, freezing rates and sperm:egg dilution ratio. **Theriogenology**, New York, v. 54, p. 1305–1308, 2000.

# Avaliação de Genótipos de Capim-elefante para Produção de Biomassa Energética no Estado de Sergipe

*Alanna Lorena Moura Goes<sup>1</sup>; Igor Meneses Freitas<sup>2</sup>; José Henrique de Albuquerque Rangel<sup>3</sup>; Evandro Neves Muniz<sup>4</sup>; Daniel de Oliveira Santos<sup>5</sup>*

## Resumo

O uso do capim elefante como fonte de biomassa energética requer a seleção de material genético com características diversas daquelas tradicionalmente contempladas para a alimentação animal. Altos teores de fibras e lignina, alta relação C:N e baixos teores de proteína são alguns dos requisitos desejados para que o carvão derivado deste material seja de boa qualidade e com mínimo consumo de energia fóssil. O capim-elefante destaca-se pela capacidade de fixação de carbono de até 12,6 t C ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, podendo, portanto, se beneficiar do “mercado de commodities de carbono” estabelecido a partir do protocolo de Kioto. Do ponto de vista socio-econômico, a alternativa de uso do capim-elefante como fonte de energia renovável contribuirá significativamente para a economia do agronegócio e para o aumento do número de empregos no meio rural. Neste trabalho foi realizada seleção massal estratificada em uma população de capim-elefante de porte normal, obtida pelo programa de melhoramento genético de capim-elefante, a partir do cruzamento de 37 genótipos selecionados do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-Elefante. O ensaio está sendo realizado no campo experimental da

<sup>1</sup> Bolsista PIBITI/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>2</sup> Bolsista PIBC/FAPITEC/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Engenheiro-agrônomo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, Sergipe, josé.rangel@embrapa.br.

<sup>4</sup> Engenheiro-agrônomo, Doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, evandro.muniz@embrapa.br.

<sup>5</sup> Químico, analista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.



Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizado no município de Nossa Senhora das Dores, SE. Foi implantada uma área dessa população, com plantas individuais distribuídas no espaçamento de 2 x 0,5 m (492 indivíduos). Setenta e nove genótipos foram selecionados e estão sendo avaliados em uma fase 2 do sensaio. Até o momento tem se verificado uma fraca relação entre o número de perfilhos por planta e a produção de matéria seca da planta..

**Palavras-chave:** *Pennisetum purpureum*, melhoramento genético, bioenergia.

## Introdução

A valorização da biomassa como insumo energético moderno surgiu na década de 70 com as crises do petróleo (1973 e 1979). Entretanto, a partir de 1985, os preços do petróleo voltaram a despencar, diminuindo novamente o interesse em energias alternativas. Mais tarde, na década de 90, a biomassa volta a ganhar destaque no cenário energético mundial devido ao desenvolvimento de tecnologias mais avançadas de transformação, pela ameaça de esgotamento das reservas de combustíveis fósseis e pela incorporação definitiva da temática ambiental nas discussões sobre desenvolvimento sustentável.

De acordo com Nogueira e Lora (2003) as principais fontes de recursos bioenergéticos são as florestas nativas, as florestas plantadas, cultivos anuais (cana-de-açúcar, milho, soja, etc.), plantas aquáticas, além dos resíduos provenientes tanto da atividade agropecuária (resíduos de colheita agrícola e florestal), quanto da atividade industrial (resíduos de serraria, bagaço-de-cana, etc.).

Em termos mais específicos, são primazes o desenvolvimento de tecnologias apropriadas e a definição da matéria-prima a ser utilizada para a geração de energia, sem ou com o mínimo de impactos negativos ao meio ambiente. Este é o caso das tecnologias de conversão termoquímica da biomassa, a pirólise e a gaseificação, para a produção de combustíveis e outros subprodutos de maior valor agregado afins a

vários outros processos (GÓMEZ, 2002). Nos últimos anos, vem sendo desenvolvida uma nova técnica para substituição do carvão mineral, pelo carvão derivado de biomassa seca de capim elefante. (QUESADA, 2001). O uso do capim elefante como fonte de biomassa energética requer a seleção de material genético com características diversas daquelas tradicionalmente contempladas para a alimentação animal. Altos teores de fibras e lignina, alta relação C:N e baixos teores de proteína são alguns dos requisitos desejados para que o carvão derivado deste material seja de boa qualidade e com mínimo consumo de energia fóssil (QUESADA et al., 2004).

Os primeiros trabalhos visando a obtenção de biomassa de capim elefante com qualidade para energia foram desenvolvidos por Quesada et al. (2000), Quesada (2001) e Quesada et al. (2003). Com relação ao uso energético do capim elefante, vale destacar o trabalho pioneiro do Instituto de Pesquisas Tecnológicas, com a criação do Projeto Integrado de Biomassa (PIB) que visava o estudo da viabilidade do capim elefante como insumo para produção de energia. Neste sentido, um dos primeiros trabalhos realizados foi o desenvolvido por Fernandes (2000), com a avaliação tecno-econômica da gaseificação da biomassa de capim elefante para a produção de energia elétrica.

A produção de carvão a partir do capim-elefante apresenta potencial para substituir parte do carvão mineral de uso siderúrgico. O carvão derivado da biomassa desta planta constitui uma fonte alternativa e mais limpa de energia, com a vantagem de ser renovável. O capim-elefante destaca-se pela capacidade de fixação de carbono de até  $12,6 \text{ t C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ , podendo, portanto, se beneficiar do “mercado de *comodities* de carbono” estabelecido a partir do protocolo de Kioto. Do ponto de vista socio-econômico, a alternativa de uso do capim-elefante como fonte de energia renovável contribuirá significativamente para a economia do agronegócio e para o aumento do número de empregos no meio rural.

## Material e Métodos

Foi realizada seleção massal estratificada em uma população de capim-elefante de porte normal, obtida pelo programa de melhoramento genético de capim-elefante, a partir do cruzamento de 37 genótipos selecionados do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-Elefante. O ensaio está sendo realizado no campo experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizado no município de Nossa Senhora das Dores, SE. Foi implantada uma área de 1000 m<sup>2</sup> dessa população, com plantas individuais distribuídas no espaçamento de 2 x 0,5 m (492 indivíduos). A seleção foi realizada considerando os seguintes critérios: vigor fenotípico; persistência; arquitetura da planta; perfilhamento basal e aéreo e produção de matéria seca por touceira que são características agrônômicas de interesse para produção de biomassa energética. Após dois cortes de avaliação realizados em agosto/2012 e janeiro/2013 foram selecionados 79 genótipos, e clonados (propagados vegetativamente) ainda em 09.01.2013. Em seguida, os 79 genótipos (clones) e duas testemunhas estão sendo avaliados em ensaio utilizando delineamento de látice simples 9x9. A parcela é constituída de uma fileira simples de 5,0 m de comprimento, espaçadas entre si em 1,5 m, sendo úteis os 4,0 m centrais, desprezando-se 0,5 m de cada extremidade. A frequência de cortes é de 2 cortes anual, e a adubação nitrogenada é de 60 Kg de N ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Os demais tratos culturais e manejo de adubação são os mesmos recomendados para Capineira. Os genótipos serão avaliados sob condição de corte pelo período mínimo de dois anos. Esta sendo avaliada a produção de matéria seca e verde de caule, folhas e planta inteira; % de matéria seca do caule, folha e planta inteira; altura da planta; número de perfilhos; diâmetro do caule; e incidência de pragas e doenças. Também será realizada a caracterização energética da matéria seca. Os melhores genótipos serão enviados para da Rede de Ensaios de Capim-Elefante – RENACE.

Em 30.04.2013 foi realizado um corte de uniformização no ensaio de fase 2 sendo que nesse corte não foram avaliadas nenhuma das variáveis visto a pouca idade de rebrota. O próximo corte para avaliação está programado para 30.10.2013.

## Resultados e Discussão

Seis meses após corte de uniformização efetuado em fevereiro/2011 foram realizadas duas avaliações (agosto/2012 e Janeiro/2013) do nº de perfilhos e da produção de MS por touceira de cada um dos 492 clones introduzidos por sementes. A Tabela 1 contém os dados de número de perfilhos e produção de matéria seca médias das duas avaliações dos 70 clones selecionados para fazerem parte da segunda fase do ensaio. Como se tratavam de plantas individuais sem repetição, nenhuma análise estatística foi efetuada para seleção dos materiais, sendo simplesmente selecionados aqueles com maiores produções de matéria seca e número de perfilhos, tendo a produção de matéria seca como a variável mais importante na seleção. Nos clones selecionados a produção de matéria seca variou de 2,27 a 5,25 kg/touceira e o nº de perfilhos de 16 a 83 perfilhos/touceira. Como pode ser observado não ocorreu uma boa relação entre o nº de perfilhos e a produção de matéria seca, com um coeficiente de correlação igual a 0,16.

**Tabela 1.** Número de perfilhos e produção de matéria seca (MS) por touceira de 79 clones de capim-elefante selecionados para fazerem parte da fase dois do ensaio de seleção de clones para produção de biomassa energética.

Classificação	Número de perfilhos	Produção MS/m²	Número de plantas de origem	Classificação	Número de perfilhos	Produção MS/m²	Número de plantas de origem
1	49	5,25	270	41	38	2,76	140
2	55	4,94	356	42	26	2,75	482
3	51	4,59	386	43	24	2,74	255
4	34	4,28	2	44	57	2,73	289
5	33	4,00	311	45	52	2,72	463
6	31	3,94	49	46	42	2,72	17
7	37	3,90	254	47	46	2,70	179
8	42	3,87	118	48	23	2,63	300
9	31	3,82	192	49	59	2,62	204
10	45	3,77	261	50	43	2,59	29
11	41	3,76	433	51	26	2,58	52
12	26	3,55	450	52	28	2,55	283
13	39	3,55	252	53	33	2,53	430
14	36	3,53	27	54	41	2,53	442
15	51	3,38	5	55	19	2,51	152
16	40	3,33	320	56	30	2,51	487
17	52	3,28	344	57	25	2,49	308
18	42	3,27	98	58	54	2,48	354
19	38	3,23	11	59	51	2,48	492
20	34	3,23	362	60	27	2,48	303
21	32	3,22	63	61	33	2,47	483
22	83	3,20	50	62	23	2,46	312
23	37	3,17	37	63	25	2,46	423
24	27	3,12	102	64	16	2,45	114
25	34	3,11	403	65	38	2,40	332
26	31	3,10	155	66	34	2,39	281

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

Classificação	Número de perfilhos	Produção MS/m <sup>2</sup>	Número de plantas de origem	Classificação	Número de perfilhos	Produção MS/m <sup>2</sup>	Número de plantas de origem
27	50	3,10	146	67	30	2,39	238
28	26	3,09	30	68	54	2,39	448
29	42	2,95	236	69	38	2,38	331
30	41	2,94	257	70	23	2,37	474
31	29	2,88	376	71	47	2,37	240
32	33	2,83	265	72	34	2,35	269
33	22	2,81	48	73	73	2,31	263
34	39	2,81	86	74	44	2,31	229
35	56	2,81	369	75	38	2,31	234
36	48	2,80	231	76	28	2,29	136
37	24	2,80	1	77	37	2,29	44
38	27	2,80	287	78	60	2,28	357
39	39	2,79	480	79	25	2,27	464
40	34	2,76	65				

## Conclusões

Os dados até o momento colhidos ainda não permitem nenhuma indicação de clones para as fases seguintes de seleção.

A variável número de perfilhos não tem se mostrado como bom indicativo para a seleção dos clones.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Embrapa pelo financiamento do projeto no qual o trabalho está inserido e a FAPITEC pelo incentivo da bolsa.

## Referências

FERNANDES, M. C. **Avaliação tecno-econômica da gaseificação do capim-elefante para eletrificação rural**. 2000. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

GÓMEZ, E. O. **Estudo da pirólise rápida de capim elefante em leito fluidizado borbulhante mediante caracterização dos finos de carvão**. 2002. 369 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

NOGUEIRA, L. A. H.; LORA, E. E. S. **Dendroenergia: fundamentos e aplicações**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2003. 199 p.

QUESADA, D. M. **Seleção de genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) para a alta produção de biomassa e eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN)**. 2001. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

QUESADA, D. M.; FRADE, C.; RESENDE, A. A.; POLIDORO, J. C.; REIS, V. M.; BODDEY, R.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; XAVIER, D. Fixação biológica de nitrogênio como suporte para a produção de energia renovável. In: ENCONTRO DE ENERGIA NO MEIO RURAL, 3., 2000, Campinas. **Proceedings... Campinas, 2000**. Disponível: <[http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=MSC0000000022000000100031&lng=en&nrm=abn](http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC0000000022000000100031&lng=en&nrm=abn)> .

QUESADA, D. M.; COELHO, C. H. M.; BODDEY, R.; REIS, V. M.; ALVES, B.; URQUIAGA, S. Efeito da adubação verde e n-fertilizante no acúmulo de biomassa e fixação biológica de nitrogênio em genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 37, p. 54-59, 2003.

QUESADA, D. M.; BODDEY, R. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. Parâmetros qualitativos de genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) estudados para a produção de energia através da Biomassa. Seropédica, RJ: Embrapa Agrobiologia, 2004. 4 p. (Embrapa Agrobiologia. Circular Técnica, 8).

# Obtenção de Clones de Capim-elefante para Produção de Forragem Adaptados à Região dos Tabuleiros Costeiros e Baixada Litorânea do Nordeste

*Igor Meneses Freitas<sup>1</sup>; Alanna Lorena Moura Goes<sup>2</sup>; José Henrique de Albuquerque Rangel<sup>3</sup>; Evandro Neves Muniz<sup>4</sup>; Daniel de Oliveira Santos<sup>5</sup>*

## Resumo

O potencial produtivo do capim-elefante, associado às outras características forrageiras favoráveis, tais como boa qualidade, palatabilidade, vigor e perenidade, tem estimulado não só o cultivo dessa espécie como também o seu melhoramento genético visando ao desenvolvimento de cultivares melhoradas. A obtenção de cultivares melhoradas é uma necessidade comum a produtores de leite e de carne de todo o país. Está sendo realizado ensaio de VCU sob corte para o Bioma Cerrado, utilizando metodologia estabelecida pelo Registro Nacional de Cultivares (RNC). São avaliados oito genótipos de capim-elefante (população hexaploide “PCM 0702”; população “PCEA”; e dois clones de capim-elefante utilizando o delineamento de blocos casualizados com três repetições. O ensaio foi instalado em outubro 2012. Em março 2013 foi efetuado um corte de uniformização e em maio 2013 o primeiro corte para avaliação dos parâmetros estruturais e de produção. Os dados foram avaliados pela análise de variância com médias comparadas pelo teste LSD a 0,5%. Destaque para os parâmetros estruturais foi notado no clone 5 (CNPGL 96-27-3) que além de ser o mais alto foi também um dos com maior número de perfilhos. Nessa primeira avaliação para os parâmetros produtivos pode-se destacar o clone 4 em termos de relação folha/caule, que é um parâmetro muito importante para qualidade da forragem.

**Palavras-chave:** *Pennisetum purpureus*, nutrição animal, capim para corte.

<sup>1</sup> Bolsista PIBITI/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>2</sup> Bolsista PIBIC/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Engenheiro-agrônomo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, Sergipe, josé.rangel@embrapa.br.

<sup>4</sup> Engenheiro-agrônomo, Doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, evandro.muniz@embrapa.br.

<sup>5</sup> Químico, analista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.



## Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de leite e carne a pasto, com um rebanho de 205 milhões de cabeças bovinas (IBGE, 2009), explorando 220 milhões de hectares de pastagens. Cerca de 100 milhões de hectares são ocupados por forrageiras cultivadas e o restante constituído de pastagens naturais compostas por espécies nativas ou naturalizadas (JORGE, 2008).

Dentre as principais restrições tecnológicas detectadas para a pecuária nacional, destaca-se a necessidade de melhorar a produtividade e a qualidade das pastagens, sendo apontados como desafios para a pesquisa, a obtenção de cultivares forrageiras que possam atender às necessidades nutricionais dos rebanhos (JORGE, 2008). A intensificação dos sistemas de produção animal demanda a utilização de espécies forrageiras de melhor produtividade e valor nutritivo, já que nesses sistemas são utilizados animais de maior potencial genético, que exigem alimentos de melhor valor nutritivo.

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), descoberto no início do século XX pelo Coronel Napier (BENNET, 1976), é nativo de regiões da África Tropical, com pluviosidade média superior a 1000 mm anuais. O potencial produtivo do capim-elefante, associado às outras características forrageiras favoráveis, tais como boa qualidade, palatabilidade, vigor e perenidade, tem estimulado não só o cultivo dessa espécie como também o seu melhoramento genético visando ao desenvolvimento de cultivares melhoradas (SOBRINHO et al., 2009). Entretanto, uma das grandes limitações à expansão da área cultivada com capim-elefante é a necessidade do uso da propagação vegetativa, visto que a maioria das cultivares produz sementes minúsculas, deiscentes e de baixo vigor.

A obtenção de cultivares melhoradas é uma necessidade comum a produtores de leite e de carne de todo o país. Entre os atributos desejados, busca-se cultivares com propagação por meio de sementes, resistência à cigarrinha das pastagens, maior velocidade de crescimento, maior produtividade, melhor qualidade nutricional, tolerância a solos de baixa fertilidade e distribuição mais equitativa da produção de matéria seca durante o ano (PEREIRA et al., 2008; SOBRINHO et al., 2008)

O capim-elefante é uma das forrageiras que mais têm contribuído para alimentação animal em sistemas de produção de leite. Além da sua comprovada superioridade para formação de capineiras, diversos autores (CORSI, 1992; DERESZ, 1994; DEREZ et al., 1994; MARTINS et al., 1992; 1993; CUNHA et al., 2007) têm demonstrado que o capim-elefante apresenta um excelente comportamento para uso sob pastejo rotativo.

A maioria das forrageiras tropicais concentra a produção de forragem no período das chuvas, e no período seco as pastagens não produzem forragem suficiente para atender às necessidades de alimentação animal. Para contornar este problema, pode-se armazenar, sob a forma de feno ou silagem, a forragem produzida com maior facilidade no período das chuvas para uso como suplemento volumoso na época de seca. Vilela (1997a,b) fez uma ampla discussão sobre a utilização do capim-elefante para produção de silagem e feno. Um dos pontos críticos da produção tanto de silagem como de feno, é o elevado teor de água do capim-elefante quando a forragem ainda apresenta boa qualidade. A obtenção de cultivares com maior teor de matéria seca poderá resultar na solução desta dificuldade; contudo, deve-se avaliar se aumento do teor de matéria seca não está associado à obtenção de uma planta com maior quantidade de compostos não-digeríveis.

A obtenção de novas cultivares de capim-elefante de melhor desempenho e eficiência na utilização de insumos, promoverá aumento da área cultivada com capim-elefante, e, conseqüentemente, da produção de leite e carne, com redução de custos, atendendo às expectativas dos produtores. São esperados impactos ambientais positivos decorrentes da menor utilização de insumos.

## Material e Métodos

Os ensaios são conduzidos no campo experimental Jorge do Prado Sobral da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizado no município de Nossa Senhora das Dores, SE.

Está sendo realizado ensaio de VCU sob corte para o Bioma Cerrado, utilizando metodologia estabelecida pelo Registro Nacional de Cultivares (RNC). São avaliados oito genótipos de capim-elefante (população hexaploide “PCM 0702”;

população “PCEA”; e dois clones de capim-elefante utilizando o delineamento de blocos casualizados com três repetições. A parcela experimental é constituída de quatro linhas de seis metros, sendo o espaçamento entre linhas de 1,0 m. O ensaio será conduzido pelo período de dois anos. Os cortes de avaliação são efetuados a cada 60 dias durante o período chuvoso e, no período seco, no mínimo dois cortes sendo um no meio da estação seca e outro no final. São avaliados a produção de matéria seca de forragem e folhas; relação folha/colmo; altura da planta; vigor fenotípico; número de perfilhos; infestação de cigarrinhas-das-pastagens; incidência de pragas e doenças; teor de proteína bruta; FDN e FDA; DIVMS.

***Clones que participam do ensaio de VCU***

Clone 1 - CNPGL 96-21-1

Clone 3 - CNPGL 96-24-1

Clone 4 - CNPGL 96-25-3

Clone 5 - CNPGL 96-27-3

Clone 13 - CNPGL 00-211

Clone 46 - CNPGL 91-11-12

Clone 53 - CNPGL 94-07-2

Clone 57 - CNPGL 92-66-3 cv BRS Canará

Clone 58 - CNPGL 91-06-3

Clone 60 - Local 2

O ensaio foi instalado em outubro 2012. Em março 2013 foi efetuado um corte de uniformização e em maio 2013 o primeiro corte para avaliação dos parâmetros estruturais e de produção.

Os dados foram avaliados pela análise de variância com médias comparadas pelo teste LSD a 0,5%.

## Resultados e Discussão

A Tabela 1 contém os dados estruturais dos clones no ensaio de VCU relativo à avaliação realizada em maio 2013. Destaque nesses parâmetros é notado no clone 5 (CNPGL 96-27-3) que além de ser o mais alto foi também um dos com maior número de perfilhos. Em relação aos dados de folha esse clone possui folhas de comprimento médio e estreitas. Outro clone de comportamento interessante é o clone 4 (CNPGL 96-25-3) que apesar de porte baixo produziu o maior número de perfilhos com folhas compridas e largas.

Os dados de produção encontram-se na Tabela 2. Observa-se que na maioria dos parâmetros as médias foram estatisticamente semelhantes, embora com variações de valores bastante altas. Tal falta de significância deve ter sido causada por falhas no stand ocorridas em alguns blocos para alguns clones, as quais não foram consideradas na análise estatística e elevaram o coeficiente de variação. Nessa primeira avaliação pode-se destacar o clone 4 em termos de relação folha/caule, que é um parâmetro muito importante para qualidade da forragem.

**Tabela 1.** Médias dos parâmetros estruturais de clones de capim-elefante no ensaio de VCU, em corte realizado em maio de 2013.

Clone		Altura (cm)	Clone	Nº perfílos	Clone		Comprimento de folha (cm)	Clone (cm)	Largura de folha
3		183,33 a1	53	180 a1	1		81,33 a1	5	3,00 a1
4		190,00 a1 a2	58	194 a1 a2	3		92,33 a1 a2	13	3,00 a1
1		206,66 a1 a2 a3	57	202 a1 a2 a3	60		95,00 a1 a2	60	3,00 a1
46		213,33 a1 a2 a3 a4	3	225 a1 a2 a3 a4	53		96,67 a1 a2	1	3,00 a1
60		220,00 a1 a2 a3 a4	46	227 a1 a2 a3 a4	5		97,00 a1 a2	46	3,33 a1 a2
13		221,66 a2 a3 a4	60	240 a2 a3 a4 a5	13		100,00 a1 a2	57	3,67 a2 a3
58		223,33 a2 a3 a4	13	244 a2 a3 a4 a5	58		102,33 a1 a2	58	3,67 a2 a3
53		226,66 a2 a3 a4	1	253 a3 a4 a5	57		103,67 a1 a2	4	3,67 a2 a3
57		228,33 a3 a4	5	255 a4 a5	46		103,67 a1 a2	53	3,67 a2 a3
5		246,66 a4	4	2 81 a5	4		112,67 a2	3	4,00 a3
CV %		10,01	CV %		13,06	CV %		15,83	11,03

Médias seguidas da mesma codificação na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de DMS (p < 0,05).

**Tabela 2.** Médias dos parâmetros produtivos de clones de capim-elefante no ensaio de VCU, em corte realizado em maio de 2013.

Clone	Produção MS	Clone	Produção MS	Clone	Produção MS	Clone	relação
	Folhas kg/ha		Caules Kg/ha		Total kg/ha		folha/caule
53	11.972,33 a1	13	17.221,00 a1	13	30.891,33 a1	58	0.54 a1
13	13.670,33 a1	46	20.430,67 a1 a2	46	34.891,67 a1	60	0.46 a1a2
46	14.460,67 a1	4	21.948,33 a1 a2	57	38.197,67 a1	53	0.45 a1a2
60	14.761,00 a1	57	23.053,33 a1 a2	53	38.558,33 a1	57	0.66 a1a2
57	15.144,00 a1	3	25.013,00 a1 a2	1	41.670,33 a1	3	0.74 a1a2
1	15.454,67 a1	1	26.215,33 a1 a2	4	41.892,33 a1	46	0.71 a1a2
58	16.828,67 a1	5	26.521,33 a1 a2	3	43.503,33 a1	1	0.59 a1a2
5	17.454,33 a1	53	26.586,00 a1 a2	5	43.975,67 a1	5	0.66 a1a2
3	18.490,33 a1	58	31.397,33 a2	60	46.615,00 a1	13	0.79 a1a2
4	19.944,00 a1	60	31.853,67 a2	58	48.226,33 a1	4	0.91 a1
CV % 32,47		CV % 28,61		CV % 24,88		CV % 34,28	

Médias seguidas da mesma codificação na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de DMS (p < 0,05).

## Conclusões

Os dados apresentados são de apenas um corte e insuficientes para qualquer indicação de clones para a fase seguinte do ensaio.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa pelo financiamento do projeto no qual o trabalho está inserido e à FAPITEC pelo incentivo da bolsa.

## Referências

BENNET, H. W. Pasto Johnson, pasto Alfombra y otras gramíneas para el sur humedo de los Estados Unidos. In: HUGUES, H. D.; HEATH, M. E.; METCALFE, D. S. (Ed.). **Forrajes**, México: C.E.C.S.A., 1976. p. 321-34. cap.29.

CORSI, M. Manejo do capim-elefante sob pastejo. In: SIMPOSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 10., Piracicaba, 1992. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1992. p. 87-115.

CUNHA, M. V.; SANTOS, M. V. F.; LIRA, M. A.; MELLO, A. C. L.; FREITAS, E. V.; APOLINÁRIO, V. X. O. Genótipos de capim-elefante sob pastejo no período de seca na Zona da Mata de Pernambuco: fatores relacionados à eficiência de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 2, p. 291-300, 2007.

DERESZ, F. Capim-elefante manejado em sistema rotativo para produção de leite e carne. In: PASSOS, L. P.; CARVALHO, L. A.; MARTINS, C. E.; BRESSAN, M.; PEREIRA, A. V. (Ed.). **Biologia e manejo do capim-elefante**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1994. p.161-172.

DERESZ, F.; CÓSER, A. C.; MARTINS, C. E.; BOTREL, M. A.; AROEIRA, L. J. M.; MALDONADO, V. H.; MATOS, L. L. Utilização do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) na produção de leite. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FORRAGEIRAS DE PASTAGEM, 1994, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 1994. p.183-199.

IBGE. **Indicadores IBGE**: estatística da produção pecuária. Brasília, DF , 2009. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> .

JORGE, J. T. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 60., 2008, Campinas. **Palestras...** Campinas: SBPC, 2008. Disponível em: <<http://www.agencia.fapesp.br>> .

MARTINS, C. E.; COSER, A. C.; DERESZ, F.; SALVATI, J. A.; NETTO, F. E. S. Desempenho de novilhas mestiças Holandês x Zebu, em pastagem de capim-elefante submetida a diferentes níveis de adubação fosfatada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29., 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p. 415.

MARTINS, C. E.; DERESZ, F.; MATOS, L. L. Produção intensiva de leite em pasto de capim-elefante: Informações Agronômicas. **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato**, Piracicaba, v. 62, p. 1-4, 1993.

PEREIRA, A. V.; MACHADO, M. A.; AZEVEDO, A. L. S.; NASCIMENTO, C. S.; CAMPOS, A. L.; LEDO, F. J. S. Diversidade genética entre acessos de capim-elefante obtida com marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, p. 1216-1221, 2008.

SOBRINHO, F. S.; LÊDO, F. J. S.; KÖPP, M. M.; PEREIRA, A. V.; SOUZA, F. F. Melhoria de gramíneas forrageiras na Embrapa Gado de Leite. In: SIMPÓSIO, 7.; CONGRESSO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 3., 2009, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA/DZO, 2009. p. 98-115.



SOBRINHO, F. S.; LÉDO, F. J. S.; PEREIRA, A. V.; OLIVEIRA, J. S. Avaliação do potencial de propagação por sementes de capim-elefante hexaplóide. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 974-977, 2008.

VILELA, D. Conservação de Forragens. In: CARVALHO, M. M.; CAMPOS, O. F. (Ed.). **Embrapa Gado de Leite**: vinte anos de pesquisa. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1997a . p. 93-112.

VILELA, D. Utilização do capim elefante na forma de forragem conservada. In: CARVALHO, M. M.; ALVIM, M. J.; XAVIER, D. F. (Ed.). **Capim-elefante**: produção e utilização. Brasília, DF, 1997b. p. 113-160.

# Prevalência de Fitonematoides em Canaviais Alagoanos

**Mayara Castro Assunção<sup>1</sup>; Marissônia de Araujo Noronha<sup>2</sup>; Maria de Fátima Silva Muniz<sup>3</sup>**

## Resumo

A cana-de-açúcar tem um sistema de cultivo que favorece o desenvolvimento de fitonematoides, que são responsáveis por perdas na produtividade desta cultura. Com o objetivo de realizar um levantamento da prevalência dos principais fitonematoides em canaviais alagoanos, foram analisadas vinte áreas de cultivos de cana-de-açúcar por meio da amostragem de solo rizosférico e raízes. Como resultados, constatou-se a prevalência de fitonematoides dos gêneros *Pratylenchus* e *Meloidogyne* em todas as 20 áreas de cultivo de cana-de-açúcar avaliadas, com níveis populacionais variando de 68 a 1556 e 12 a 487, respectivamente. A presença conjunta desses fitonematoides pode resultar em perdas de produtividade da cultura, devido à ação que os mesmos produzem ao parasitarem raízes de cana-de-açúcar.

**Palavras-chave:** *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Saccharum*

<sup>1</sup> Estudante de agronomia, bolsista de Iniciação Científica, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, mayzinha\_castro@hotmail.com.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, Pesquisador, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Rio Largo, AL, marissonia.noronha@embrapa.br.

<sup>3</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, Professor, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, mf.muniz@uol.com.br.

## Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), é uma das principais culturas agrícolas produzidas no Brasil. No estado de Alagoas a área plantada com esta cultura é de aproximadamente 400 mil ha, com uma produção acima de 28 milhões de toneladas (IBGE, 2013). Dentre os fatores responsáveis pela redução na produtividade da cana-de-açúcar destaca-se a ocorrência de fitonematoides (FERREIRA LIMA, 2000). Estes organismos danificam o sistema radicular das plantas, chegando a comprometer a absorção de água e nutrientes e, consequentemente, o seu desenvolvimento (OLIVEIRA et al., 2005).

Vários fitonematoides atacam a cana-de-açúcar, porém, os mais importantes e que são comumente encontrados parasitando raízes de cana-de-açúcar são do gênero *Meloidogyne* Goeldi, em particular as espécies *M. javanica* (Treub) Chitwood e *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, responsável pela formação de galhas, e o nematoide das lesões *Pratylenchus zeae* (Graham) (MOURA et al., 1999; CHAVES et al., 2009), causando extensas áreas necrosadas. Os sintomas incitados por estes fitonematoides em cana-de-açúcar, no campo, se caracterizam pela presença de reboleiras de plantas menores e cloróticas, plantas murchas nas horas mais quentes do dia e menos produtivas (DINARDO-MIRANDA, 2005).

Levantamentos de fitonematoides realizados em diferentes regiões produtoras de cana-de-açúcar do país têm mostrado que a frequência e as populações destes nematoides estão cada vez mais elevadas (DIAS-ARIEIRA; BARIZÃO, 2009), enfatizando assim, a importância de tê-los como meio de disponibilizar informações para monitorar flutuações populacionais, bem como verificar a eficiência e aceitação de práticas de controle recomendadas. Deste modo, este trabalho teve como objetivo avaliar a prevalência de fitonematoides em canaviais alagoanos.

## Material e Métodos

O levantamento das populações de fitonematoides foi realizado por meio de amostragens em 20 áreas de cultivo de cana-de-açúcar, com histórico de baixa produtividade, localizadas no estado de Alagoas. Em cada área foram obtidas

quatro amostras de 1,0 kg de solo rizosférico e 100 g de raiz de cana-de-açúcar, sendo processados 100 cm<sup>3</sup> de solo e 50 g de raiz.

O procedimento para extração dos fitonematoides do solo seguiu a metodologia proposta por Jenkins (1964) e Barker (1985) para das raízes de cana-de-açúcar, a técnica de maceração rápida em liquidificador (30 segundos) associada ao método de Jenkins, 1964. Após as extrações, foi feita a contagem dos fitonematoides em lâminas de Peters, com o auxílio de microscópio óptico, onde foram realizadas três leituras por ponto amostrado em cada área. Para a identificação dos gêneros *Pratylenchus* e *Meloidogyne* foram efetuadas observações baseadas nas características morfológicas e morfométricas, com o auxílio de uma chave de identificação de fitonematoides de plantas, proposta por Mai e Mullin (1996). Com os dados obtidos foi quantificada a densidade populacional dos principais gêneros de fitonematoides. Após a quantificação das populações em cada ponto e área amostrada, procedeu-se a preservação dos espécimes em formaldeído (4 %).

## Resultados e Discussão

Em todas as áreas de cana-de-açúcar amostradas foram constatadas a presença de nematoides dos gêneros *Pratylenchus* e *Meloidogyne*. Em levantamentos realizados em plantios de cana-de-açúcar, localizados na região Nordeste e em diferentes regiões do Brasil, verificou-se que estes dois gêneros de fitonematoides são os mais frequentes, bem como que suas populações estão cada vez mais elevadas (MOURA et al., 2000; DIAS-ARIEIRA; BARIZÃO, 2009), sendo considerados como os principais nematoides causadores de danos a cana-de-açúcar (CADET; SPAULL, 1985; DINARDO-MIRANDA et al., 2003).

Foram observadas baixas densidades populacionais de *Meloidogyne* spp. em todas as amostras de solo das áreas analisadas, de acordo com o sistema da Clemson University (1984) (Tabela 1). Em raízes, este nematoide apresentou níveis médios em três áreas (02, 03 e 06), segundo Novaretti (1997), sendo a maior densidade de *Meloidogyne* spp. observada na área 06 e não havendo indivíduos deste gênero em amostras de solo das áreas 10, 13 e 20 (Tabela 1).

Para o gênero *Pratylenchus* amostras de solo de sete áreas (01, 04, 05,

09, 14, 17 e 18) apresentaram alta densidade populacional, conforme uma adaptação do sistema da Clemson University (1984). Para as amostras de raiz, todas as áreas analisadas resultaram em baixa população de indivíduos deste gênero (NOVARETTI, 1997) (Tabela 1).

Houve, em algumas amostras analisadas, um grande número de indivíduos do gênero *Pratylenchus*, ressaltando a reconhecida virulência deste nematoide para a cana-de-açúcar (SPAULL; CADET, 1990). A presença de grande quantidade de indivíduos, a ampla distribuição nos canaviais alagoanos e a reconhecida virulência deste patógeno em relação à cana-de-açúcar constituem uma forte evidência que este nematoide é um permanente indutor de ações patogênicas à cultura, causando efeitos endêmicos, que podem aumentar em severidade quando em associação com um ou mais fatores adversos do meio ambiente, inclusive fitonematoides (MOURA et al., 1999). Existem alguns relatos que relacionam a prevalência do gênero *Pratylenchus* com a baixa produtividade de canaviais localizados na região Nordeste do Brasil (MOURA et al., 1999; MOURA et al., 2000).

Quando considerada a variedade de cana-de-açúcar, observou-se que as maiores populações de *Pratylenchus* spp. ocorreram nas variedades RB 92579, RB 93509 e SP 92-1631, respectivamente. Para *Meloidogyne* spp., os maiores índices populacionais foram verificados nas variedades SP 81-3250, SP 75-3046 e RB 92579. É importante ressaltar que para ambos os gêneros de nematoides, a variedade RB 92579 está no grupo das variedades que apresentaram os maiores índices populacionais, sendo a mesma cultivada em 45% das áreas de cana-de-açúcar amostradas no estado de Alagoas. A suscetibilidade desta variedade a *M. incognita* tem sido relatada em outros estudos (SILVA et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2008).

Associações envolvendo *Pratylenchus* e *Meloidogyne* numa mesma touceira podem causar danos consideráveis, mesmo esses nematoides não apresentando níveis populacionais altos quando analisados separadamente.

**Tabela 1.** Prevalência de fitonematóides em canaviais localizados no Estado de Alagoas.

Área	Município	Variedade	Pratylenchus spp.		Meloidogyne spp.	
			Raiz (50 g)	Solo (100 cm <sup>3</sup> )	Raiz (50 g)	Solo (100 cm <sup>3</sup> )
01	Rio Largo	RB 92579	157*	113	23	14
02	São Miguel dos Campos	SP 81-3250	192	3	415	12
03	Teotônio Vilela	SP 753046	68	2	389	0,8
04	Paripueira	SP 92-1631	873	93	166	27
05	Campo Alegre	RB 92579	328	155	85	39
06	Marechal Deodoro	SP 81-3250	258	0,8	487	4
07	Teotônio Vilela	SP 92-1631	108	33	68	19
08	Penedo	RB 93509	961	50	12	140
09	Anadia	SP 79-1011	716	125	45	8
10	Novo Lino	RB 92579	716	11	68	0
11	Campo Alegre	RB 92579	1002	15	49	0,8
12	Atalaia	RB 8692579	299	65	74	3
13	São José da Laje	SP 79-1011	448	5	108	0
14	Teotônio Vilela	RB 92579	1556	140	262	36
15	Pilar	RB 92579	503	15	97	8
16	Igreja Nova	RB 92579	263	54	73	15
17	Maceió	RB 92579	297	298	69	35
18	Matriz de Camaragibe	SP 81-3250	260	126	158	63
19	Penedo	RB 98710	653	6	120	3
20	Porto Calvo	RB 92579	360	11	78	0

\* Índice populacional: médias aritméticas de quatro amostras.

## Conclusões

A presença dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus* nas 20 áreas amostradas ressalta a importância desses fitonematoides como agentes indutores de danos em canaviais alagoanos, bem como a necessidade da adoção de medidas de manejo que visem à redução das populações desses nematoides em áreas de cultivo de cana-de-açúcar.

## Referências

BARKER, K. R. Sampling nematode communities. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (Ed.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985.. p. 3-17, v 2, Methodology.

CADET, P.; SPAULL, V. W. Studies on the relationship between nematodes and sugarcane in South and West Africa: plant cane. **Revue Nématologie**, Bonfy, FR, v. 8, n. 2, p. 131-142, 1985.

CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P.; OLIVEIRA, M. K. R. dos S. Incidência de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* sp. em cana-de-açúcar no estado de Pernambuco, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, SP, v. 33, n. 4, p. 278-280, 2009.

CLEMSON UNIVERSITY. **Nematode guideline for South Carolina**. South Carolina: Clemson University, 1984.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; BARIZÃO, D. A. O. Canaviais Infestados. **Revista Cultivar**, Pelotas, n. 128, p. 12-14, 2009.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Manejo de fitonematoides em cana-de-açúcar. **Jornal Cana: tecnologia agrícola**, Ribeirão Preto, v. 5, p. 64-67, 2005.

FERREIRA LIMA, R. Influência do nematicida Terbufos na flutuação populacional de nematoides e parâmetros produtivos de duas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil**, Maceió, v. 19, n. 2, p. 36-39, 2000.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GIL, M. A.; MENEGATTI, C. C. Danos causados por nematoides a variedades de cana-de-açúcar em cana planta. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, SP, v. 27, n. 1, p. 69-73, 2003.

GUIMARÃES, L. M. P.; PEDROSA, E. M. R.; COELHO, R. S. B.; CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MIRANDA, T. L. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, SP, v. 32, n. 1, p. 50-55, 2008.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, USA, v. 48, p. 692, 1964.

IBGE. **SIDRA**: banco de dados agregados, 2013. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr\\_201307.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201307.pdf)>. Acesso em: 10 ago. 2013.

MAI, W. F.; MULLIN, P. G. **Pictorial key to general of Plant Parasitic Nematodes**. Ithaca, NY: Cornell University Press. 277 p. 1996.

MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MACEDO, M. E. A.; MOURA, A. M.; SILVA, E. G.; LIMA, R. F. Ocorrência dos nematoides *Pratylenchus zeae* e *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 1, p. 101-103, 2000.

MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R.; MARANHÃO, S. R. V. L.; MOURA, A. M.; SILVA, E. G. Nematoides associados á cana-de-açúcar no estado de Pernambuco, Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, SP, v. 23, n. 2, p. 92-99, 1999.

NOVARETTI, W. R. T. Controle de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* (Nema: Tylenchoidea) em cana-de-açúcar, com nematicidas, associados ou não à matéria orgânica. 1997. 51 f. (Tese) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

OLIVEIRA, F. S.; ROCHA, M. R.; REIS, A. J. S.; MACHADO, V. O. F.; SOARES, R. A. B. Efeito de produtos químicos e naturais sobre a população de nematoide *Pratylenchus brachyurus* na cultura da cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 3, p. 171-178, 2005.



SILVA, A. P.; ELVIRA M. R. PEDROSA, E. M. R.; ANDREA CHAVES, A.; MARANHÃO, S. R. V. L. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 7, p. 814-819, 2012. Suplemento.

SPAULL, V. W.; CADETT, P. Nematode parasites of sugarcane. In: LUC, M.; SIKORA R. A.; BRIDGE, J. (Ed.). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford, GB: International Institute of Parasitology, 1990. p. 461-491.

# Fertilização de Ovócitos de Tambaqui com Sêmen in Natura

**Allisson Fabiano Silva Ferro<sup>1</sup>; Giselle Santana Barreto<sup>2</sup>; Carlos Adriano Silva Rocha Moraes<sup>2</sup>; Jadson Pinheiro Santos<sup>3</sup>; Rafael Venâncio Araújo<sup>4</sup>; Alexandre Nízio Maria<sup>5</sup>; Paulo César Falanghe Carneiro<sup>6</sup>**

## Resumo

Os objetivos deste trabalho foram determinar a relação espermatozoides:ovócito adequada na fertilização de ovócitos de tambaqui com sêmen in natura e avaliar diferentes ativadores na fertilização de ovócitos de tambaqui com sêmen in natura. Após a coleta do sêmen de seis machos, a cinética espermática foi avaliada pelo sistema computadorizado Sperm Class Analyser (SCA<sup>®</sup>) iniciando em 10 segundos após o início da ativação espermática e repetindo a intervalos de 5 segundos durante 55 segundos. Foram avaliados os seguintes parâmetros de cinética espermática: motilidade total (MT - %); motilidade progressiva (MP - %); velocidade curvilínea (VCL -  $\mu\text{m.s}^{-1}$ ); velocidade em linha reta (VSL -  $\mu\text{m.s}^{-1}$ ); e velocidade do trajeto médio (VAP -  $\mu\text{m.s}^{-1}$ ). Para a fertilização, foram testadas quatro relações espermatozoides:ovócito, entre 10.000 e 500.000, e três ativadores,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{NaCl}$  e a água do tanque dos reprodutores. Para os parâmetros de cinética espermática, o  $\text{NaHCO}_3$  manteve por mais tempo a ativação dos espermatozoides sem alterações significativas quando comparado ao  $\text{NaCl}$  e a água do tanque. As melhores relações espermatozoides:ovócito observadas foram 10.000:1 quando se utilizou o  $\text{NaCl}$  como ativador (taxa de fertilização =  $87 \pm 2\%$ ). Conclui-se que soluções salinas de  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{NaCl}$

<sup>1</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE.

<sup>2</sup> Graduando do curso de Engenharia de Pesca, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, evelyn\_sill@hotmail.com.

<sup>3</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE.

<sup>4</sup> Zootecnista, pós-doutorando FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>5</sup> Zootecnista, Doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>6</sup> Engenheiro-agrônomo, Doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

230 mOsm.kg<sup>-1</sup> apresentam-se como ativadores mais adequados na fertilização artificial de ovócitos do tambaqui, sendo possível o emprego da relação espermatozoides:ovócito 10.000:1 na fertilização com sêmen *in natura*.

**Palavras-chave:** espermatozóides, *colossoma macropomum*, cinética espermática, fertilização, ativação.

## Introdução

Nos últimos anos a piscicultura vem apresentando crescente incremento na produção de pescado nacional, sendo o Nordeste a região maior produtora com 411.000 toneladas/ano, e o tambaqui *Colossoma macropomum* a espécie nativa de maior destaque, com aumento de produção de 123% entre os anos 2003 e 2009 (MPA, 2010; IBAMA, 2007).

Apesar das técnicas de reprodução artificial de espécies reofílicas, peixes migradores como o tambaqui, estarem bem estabelecidas, poucos estudos focam a otimização dos reprodutores e seus gametas nos procedimentos de fertilização artificial. Com isso, muitas vezes é utilizada alta relação machos: fêmea e quantidade exacerbada de sêmen, subestimando-se a real capacidade de fertilização e elevando os custos de produção. Adicionalmente, poucos estudos são feitos visando a avaliação de ativadores da motilidade espermática, o que poderia aumentar ainda mais a otimização dos procedimentos de reprodução artificial de peixes reofílicos. Portanto, os objetivos deste trabalho foram determinar a relação espermatozóides: ovócito adequada na fertilização de ovócitos de tambaqui com sêmen *in natura* e avaliar diferentes ativadores na fertilização de ovócitos de tambaqui com sêmen *in natura*.

## Material e Métodos

Os ovócitos de uma fêmea induzida com extrato hipofisário foram extraídos por massagem abdominal, armazenados em bacias limpas e secas e, posteriormente, pesados e quantificados. Sêmen de três macho, também

induzidos hormonalmente, foi coletado em tubos de ensaio por massagem abdominal, tomando-se os devidos cuidados para evitar contaminação por fezes, urina, sangue e/ou água. Foram utilizadas amostras seminais com motilidade espermática superior a 80% mantida sob-refrigeração entre 4 e 6 °C para as avaliações. As amostras seminais foram ativadas com três soluções diferentes:  $\text{NaHCO}_3$  230 mOsm, NaCl 230 mOsm e água do tanque de contenção dos reprodutores (12 mOsm).

Para a avaliação da cinética espermática foi utilizado o analisador computadorizado. Alíquotas de 3  $\mu\text{L}$  de cada amostra de sêmen in natura e descongelado foram transferidas para microtubos e ativadas, respectivamente, com 100 e 50  $\mu\text{L}$  das seguintes soluções ativadoras:  $\text{NaHCO}_3$  230 mOsm, NaCl 230 mOsm e água do tanque de contenção dos reprodutores. Posteriormente uma gota de 3  $\mu\text{L}$  do sêmen ativado foi transferida para uma câmara Makler® previamente posicionada no charriot do microscópio acoplado a uma câmera de vídeo.

Para cada amostra foram capturadas automaticamente 10 vídeos de 1 segundo cada (100 imagens por segundo) iniciando em 10 segundos após a ativação espermática e com intervalos de 5 segundos. Os seguintes parâmetros foram avaliados: motilidade total (MT - %), motilidade progressiva (MP - %), velocidade curvilínea (VCL -  $\mu\text{m s}^{-1}$ ), velocidade em linha reta (VSL -  $\mu\text{m s}^{-1}$ ) e velocidade da trajetória média (VAP -  $\mu\text{m s}^{-1}$ ).

Os ovócitos foram fertilizados com o sêmen de três machos homogeneizados na forma de "pool". Após a avaliação da cinética e da concentração espermática do "pool" de sêmen e da quantificação dos ovócitos, alíquotas de 0.5 mL de ovócitos foram acondicionadas em copos plásticos com capacidade para 50 mL e testadas as seguintes relações espermatozoides: ovócito: 10,000:1, 50,000:1, 100,000:1, e 500,000:1. Posteriormente, foi avaliada a ativação da motilidade e início da fertilização pela adição de 5 mL dos seguintes ativadores: bicarbonato de sódio 230 mOsm, cloreto de sódio 230 mOsm e água do tanque de contenção dos reprodutores (12 mOsm).

Dois minutos após o início da fertilização, os ovos foram transferidos para incubadoras de cano de PVC (100 mm de diâmetro x 150 mm de altura, volume útil aproximado de um litro) com fundo telado (500  $\mu\text{m}$ ). A taxa de fertilização (TF) foi calculada 6-8 h após a fertilização em cada amostra com o

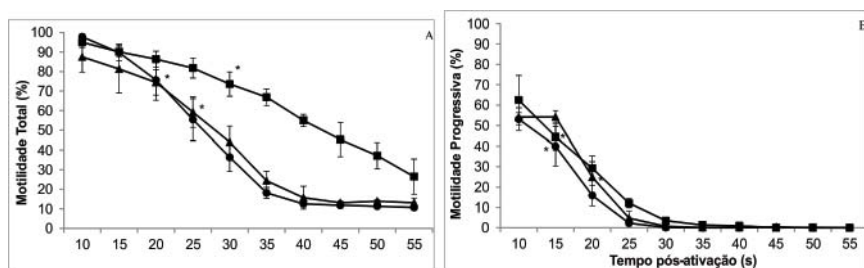
auxílio de um estereomicroscópio modelo ZEISS STEMI 2000-2, a temperatura 27-29 °C, de acordo com a seguinte equação:  $TF (\%) = (\text{número de ovócitos fertilizados/número total de ovos}) \times 100$ .

### **Análise Estatística**

Os dados foram submetidos ao teste ANOVA e, quando identificado alguma diferença significativa, foi aplicado o teste de médias Skott-Knott, ambos a 5% de significância pelo programa estatístico SISVAR 5.3.

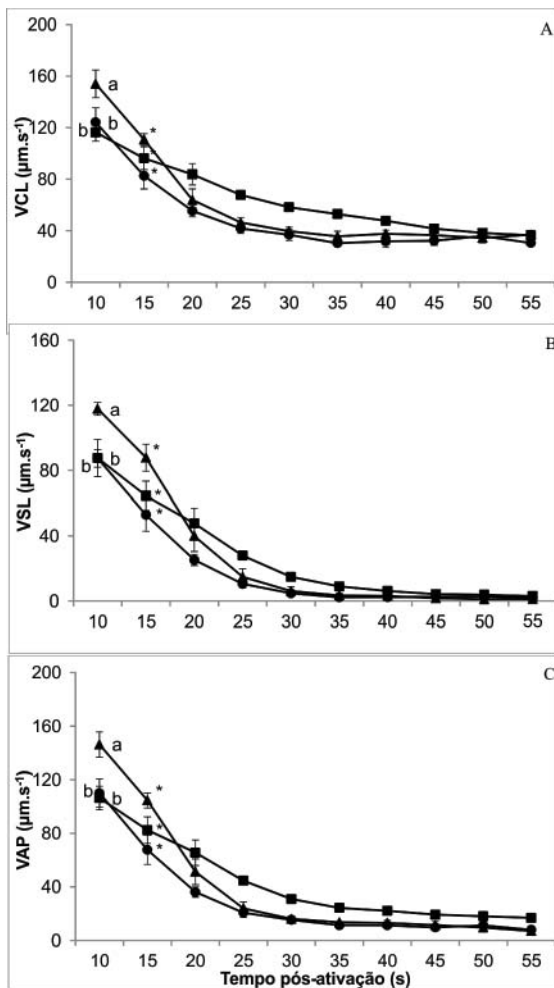
## **Resultados e Discussão**

A motilidade total (MT) foi significativamente mais elevada para o sêmen ativado com  $\text{NaHCO}_3$  em todos os tempos a partir dos 20 s. Quando ativado com  $\text{NaHCO}_3$  a MT somente apresentou diminuição significativa dos valores iniciais a partir dos 30 s após a ativação, tempo superior ao observado com os outros ativadores (25 s para NaCl e 20 s para água). Sêmen ativado com  $\text{NaHCO}_3$  também apresentou valores mais elevados de motilidade progressiva (MP) 10 s após a ativação, porém foi observada queda significativa deste parâmetro a partir dos 15 s para o sêmen ativado com água e com  $\text{NaHCO}_3$ , e a partir dos 20 s para o sêmen ativado com NaCl (Figura 1).



**Figura.1.** Motilidade total (A) e progressiva (B) do sêmen de tambaqui ativado com diferentes soluções (■-  $\text{NaHCO}_3$ , ▲- NaCl e ●- água de tanque) e avaliados por 55 s pós-ativação. \* indica diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao valor em 10 s.

Nos momentos iniciais, 10 e 15 s após a ativação, o NaCl apresentou-se como melhor ativador quando observados os parâmetros de velocidade curvilinear, velocidade em linha reta e velocidade da trajetória média (VCL, VSL e VAP). Quedas significativas nas velocidades espermáticas foram registradas 15 s após a ativação para todos os ativadores utilizados. (Figura 2).



**Figura.2.** Velocidade curvilinear - VCL (A), velocidade em linha reta - VSL (B) e velocidade da trajetória média - VAP (C) do sêmen de tambaqui, ativado com diferentes ativadores (■- NaHCO<sub>3</sub>, ▲- NaCl e ●- água de tanque) e avaliados durante 55 s pós-ativação.

Quando o sêmen foi utilizado para fertilizar ovócitos de tambaqui, não foi observada interação significativa entre os ativadores da motilidade espermática e a relação espermatozoides: ovócito utilizada na fertilização ( $p > 0,05$ ). Para o NaCl a relação espermatozoides: ovócito 10.000:1 possibilitou a mesma taxa de fertilização que as demais proporções testadas. Já para os ativadores  $\text{NaHCO}_3$  e água de tanque, aumento significativos nas taxas de fertilização foram encontrados a partir da relação 50.000 espermatozoides por ovócito ( $p > 0,05$ , Tabela 1).

**Tabela 1.** Taxas de fertilização (média  $\pm$  desvio-padrão) dos ovócitos de tambaqui.

Ativador	Relação espermatozoides: ovócitos			
	10,000:1	50,000:1	100,000:1	500,000:1
$\text{NaHCO}_3$ 230 m Osm	83 $\pm$ 4 b*	93 $\pm$ 4 a	95 $\pm$ 4 a	97 $\pm$ 1 a
NaCl 230 m Osm	87 $\pm$ 2 a	90 $\pm$ 3 a	92 $\pm$ 5 a	94 $\pm$ 4 a
Água de tanque	77 $\pm$ 2 b*	92 $\pm$ 1 a	95 $\pm$ 5 a	91 $\pm$ 5 a

Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p < 0,05$ ). \*Indica diferença significativa pelo teste Skott-Knott ( $p < 0,05$ ) entre as relações espermatozoides: ovócito.

Pouco se sabe sobre os mecanismos de ativação da motilidade espermática em espécies de peixes tropicais. Recentemente foi demonstrado que a utilização de  $\text{NaHCO}_3$  e NaCl 230 mOsm  $\text{kg}^{-1}$  como soluções ativadoras da motilidade espermática de sêmen de tambaqui proporciona maiores taxas de motilidade e maior tempo de movimentação dos espermatozoides (CARNEIRO et al., 2012). De acordo com Valdebenito et al. (2009), a utilização de soluções salinas possibilita o prolongamento do tempo de motilidade espermática como também da intensidade do batimento flagelar, tendo como resultado final a melhora na capacidade fecundante do sêmen.

No presente estudo, os melhores resultados de fertilização com sêmen *in natura* ativado com NaCl pode ser explicado pelos valores mais elevados de velocidade espermática também observados para este mesmo ativador. A taxa de fertilização está ligada tanto ao tempo de motilidade espermática quanto ao período de fechamento da micrópila do ovócito. Em briconídeos observou-se a presença de espermatozoides na micrópila dos ovócitos entre 10 e 20 s

após a ativação. Após a penetração do primeiro espermatozoide na micrópila, ocorre sua fusão com a membrana do ovócito, seguida da ativação de diversos eventos que constituem o bloqueio à polispermia (MARIA, 2008).

Tem-se como desafio para otimizar os procedimentos de reprodução artificial de peixes a obtenção de altas taxas de fertilização com o uso de quantidades mínimas de espermatozoides para a fertilização do maior número de ovócitos (RURANGWA et al., 2004). Diversos autores têm encontrado relações espermatozoides: ovócito para espécies tropicais variando de 7.103 a 12.106 (SANCHES et al., 2009; SANCHES et al., 2011; BOMBARDELLI et al., 2006). Leite et al. (2011) aponta 100,000:1 como a melhor relação espermatozoide: ovócito para o tambaqui, utilizando a água do tanque dos reprodutores como ativador. VarelaJunior et al. (2012), também trabalhando com tambaqui, conseguiram altas taxas de fertilização utilizando 70,000 espermatozoides por ovócito e água destilada como ativador. Estes valores são 7 a 10 vezes superiores ao encontrado no presente trabalho utilizando o NaCl como ativador.

## Conclusões

NaCl 230 mOsm kg<sup>-1</sup> apresenta-se como ativador adequado para o sêmen do tambaqui possibilitando o emprego da relação espermatozoide:ovócito 10,000:1 nos procedimentos de fertilização artificial.

## Agradecimentos

À EMBRAPA pela disponibilização do laboratório onde foram realizadas as análises, à Piscicultura Santa Clara pela disponibilização dos reprodutores e à FAPITEC e CNPq pelo apoio financeiro.



## Referências

BOMBARDELLI, R. A.; MORSCHBACHER E. F.; CAMPAGNOLO, R.; SANCHES, E. A.; SYPERRECK, M. A. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, p. 1251-1257, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Produção pesqueira e aquícola: estatística 2008 e 2009**. Brasília, DF, 2010.

CARNEIRO, P. C. F.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, J. P.; MARIA, A. N. Cryopreservation of tambaqui (*Colossoma macropomum*) semen: extenders, cryoprotectants, dilution ratios and freezing methods. **Cryoletters**, Cambridge, GB, v. 33, p. 385-393, 2012.

LEITE, L. V. **Dose inseminante, embriogênese e criopreservação de sêmen de tambaqui (*Colossoma Macropomum*)**. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2011.

MARIA, A. N. **Caracterização ultra-estrutural dos gametas aspectos da fertilização e desenvolvimento inicial de pirapitinga *Brycon nattereri* (Gunther, 1864)**. 2008. 115 f. Tese (Doutorado) –Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

RURANGWA, E.; KIME, D. E.; OLLEVIER, F.; NASH, J. P. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 234, p. 1-28, 2004.

SANCHES, E. A.; BOMBARDELLI, R. A.; BAGGIO, D. M.; SOUZA, B. E. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de dourado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, p. 2091-2098, 2009.

SANCHES, E. A.; BAGGIO, D. M.; PIANA, P. A.; SOUZA, B. E.; BOMBARDELLI, R. A. Artificial fertilization of oocytes and sperm activation in pacu: effects of the spermatozoa:oocyte ratio, water volume, and *in natura* semen preservation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, p. 1-6, 2011.

VALDEBENITO, I.; FLETCHER, C.; VERA, V.; FERNÁNDEZ, J. Factores fisicoquímicos que regulan la motilidad espermática en peces: aspectos básicos y aplicados. Una revisión. **Archivos de Medicina Veterinária**, Valdivia, CL, v. 41, p. 97-106, 2009.

VARELA-JUNIOR, A. S.; CORCINI, C. D.; GHELLER, S. M. M.; JARDIM, R. D.; LUCIA-JR, T.; STREIT-JR., D. P.; FIGUEIREDO, M. R. C. Use of amides as cryoprotectants in extenders for frozen sperm of tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Theriogenology**, New York, v. 78, p. 244-251, 2012.

# Produtividade de Cultivares de Morango em Sistema de Cultivo Orgânico na Região Sul de Sergipe

*Gabriel Vieira Leite<sup>1</sup>; Derivaldo Pureza da Cruz<sup>2</sup>; Maria Urbana Corrêa Nunes<sup>3</sup>*

## Resumo

O morango é apreciado como alimento nas diversas regiões do mundo e consumido de diversas formas na culinária e na indústria de cosméticos. Paralelo a essa grande importância, no sistema de produção convencional há aplicações intensivas de agrotóxicos aumentando o risco para a saúde humana. Diante desse fato os agricultores mostram interesse por sistemas alternativos de produção estimulados pelo aumento do consumo e demanda do consumidor por alimentos livres de resíduos tóxicos. A escolha da cultivar é fundamental para o sucesso da cultura, porque as suas características somadas ao manejo adotado determinarão a produtividade e a qualidade do produto final. Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a produtividade de cultivares de morango, visando à definição de tecnologia para o sistema de produção orgânico em Sergipe.

Foram avaliadas oito cultivares (Albion, Aromas, Ara, Camarosa, Nina, San Andréas, Verona e Palomar), em delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições e parcela com 30 plantas no espaçamento de 35 cm x 35 cm entre plantas e na forma de quincôncio. Para adubação e controle de pragas e doenças foram utilizados fontes de nutrientes e defensivos permitidos na agricultura orgânica. Utilizou-se o sistema de irrigação por gotejamento e “mulching” nos canteiros com plástico preto dupla face. Foram avaliados, em 31 colheitas, o número e peso de frutos.

<sup>1</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe, bolsista CNPQ/PIBIC, Aracaju, SE, glvagrônomo@gmail.com.

<sup>2</sup> Graduando em Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe, estagiário Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, deri.agri@hotmail.com.

<sup>3</sup> Engenheira Agrônoma, Doutora em Produção Vegetal, Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, maria-urbana.nunes@embrapa.br .

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Houve diferença significativa para todas as variáveis estudadas. A cultivar Camarosa apresentou maiores produtividades total (1.458 g/m<sup>2</sup>) e comercial (1.370 g/m<sup>2</sup>).

**Palavras-chave:** adubação orgânica, agricultura orgânica, *Fragaria x ananassa* Duch.

## Introdução

O morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) pertence à família das Rosáceas sendo um híbrido resultante das espécies americanas *F. chiloensis*, *F. virginiana* e *F. ovalis*, e da europeia *Fragaria vesca* (RONQUE, 1998).

A produção mundial de morango é de 3,1 milhões de toneladas por ano e a brasileira de 37,6 mil toneladas, sendo esta última obtida em uma área estimada de 3,5 mil hectares, com destaque para os Estados de Minas Gerais (41,4%), Rio Grande do Sul (25,6%) e São Paulo (15,4%) (IEA, 2013). Segundo dados do IBGE (1996) a área colhida no Brasil alcançou 6.849 hectares, destacando a região sudeste como maior produtor com aproximadamente 3.881 hectares. O Nordeste ocupa a quarta colocação com uma área de 141,7 ha onde Sergipe está inserido com 0,2 ha.

O morango consumido em Sergipe é importado dos estados do sul do Brasil com um consumo de aproximadamente 120 t/ano.

O cultivo do morango é uma atividade que pode gerar aumento significativo de renda em pequenas áreas de produção, envolvendo a mão-de-obra familiar o que atribui grande importância socioeconômica à cultura (BOTELHO, 1999), podendo a produção ser destinada ao mercado de frutas frescas e à industrialização.

O morango é apreciado como alimento nas diversas regiões do mundo e consumido nas mais variadas formas da culinária, além do uso em cosméticos. Paralelo a essa grande importância, no sistema de produção convencional há aplicações intensivas de agrotóxicos comprometendo a qualidade do fruto.

Segundo levantamento realizado recentemente pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), em sete estados brasileiros, 54% dos morangos comercializáveis tem índices de resíduos de agrotóxicos acima do permitido na lei (CASTRO, 2013).

A conscientização sobre os riscos decorrentes do uso de agrotóxicos tem levado o consumidor a procurar morango produzido sem o uso de agroquímicos e, essa demanda reflete no desenvolvimento e aperfeiçoamento de sistemas de produção orgânicos. Atualmente os agricultores mostram interesse por sistemas alternativos de produção que aumentem a rentabilidade, além de preservar a capacidade produtiva do solo a longo prazo (EHLERS, 1999). A expansão da cultura do morangueiro para novas áreas tem sido favorecida pelo aumento do consumo e, os produtores orgânicos têm obtido produções competitivas quando comparadas ao sistema convencional (DAROLT, 2003).

Um dos fatores que exerce grande influência na produção, em função da diversidade edafoclimática existente no Brasil, é o uso de cultivares selecionadas para cada região, com base na produtividade, resistência às pragas e doenças e aceitação no mercado, visando aumento na lucratividade (REBELO; BALARDIM, 1997; BOTELHO, 1999).

A escolha das cultivares é fundamental para o sucesso da cultura porque as suas características quando submetidas às condições ecológicas da área e região, somadas ao manejo adotado, é que determinarão a produtividade e a qualidade do produto final. A cultivar chega a ser limitante, devido principalmente, às suas exigências em fotoperíodo, número de horas de frio e temperatura, fatores estes, que variam em função do material genético. (DUARTE FILHO; ANTUNES, 2004). Desta forma os ensaios em cada região são importantes para seleção de cultivares e recomendação da época apropriada de plantio (DUARTE FILHO et al., 1999), visando aumentos de área de plantio e maior produtividade regional.

No Brasil, a cultura encontra-se mais difundida em regiões de clima temperado e subtropical, onde se produz morango para consumo in natura e para a industrialização (SANTOS, 2003), mas com possibilidade de maior expansão no Nordeste pela existência de cultivares de dias curtos e dias neutros introduzidas de outros Países. A produção do morangueiro é afetada pela interação dos fatores temperatura e fotoperíodo, sendo as cultivares de dia neutro aquelas em

que a indução floral ocorre sem interferência do fotoperíodo e a floração cessa com temperaturas iguais ou abaixo de 10°C, ou acima de 28°C e aquelas de dia curto que iniciam o florescimento em condições de fotoperíodo curto, menor que 12 horas (VERDIAL, 2004), constituindo materiais genéticos com grandes possibilidades de serem produtivas nas condições climáticas de Sergipe. Dentre essas cultivares destaca-se: Albion, Aromas e San Andréas (cultivares de dia neutro) e Camarosa (dia curto) e Verona.

Em sistema orgânico de produção, no oeste de Santa Catarina, a cultivar Camarosa foi mais produtiva (CESAR et al., 2011) A cultivar Aromas em sistema convencional e orgânico na região de Guarapuava/PR apresentou produtividade de 12,09 t/ha e 16,83 t/ha e peso médio de fruto de 7,31g e 8,34 g, respectivamente, nos dois sistemas de cultivo (CAMARGO, 2008).

## Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no campo experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros localizado no município de Umbaúba/SE no período de 29 de agosto a 08 de novembro de 2012. Foram avaliadas oito cultivares (Albion, Aromas, Ara, Camarosa, Nina, San Andréas, Verona e Palomar).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com oito tratamentos, quatro repetições e parcela com 30 plantas. O plantio foi feito em canteiros com 1,20m de largura, mantendo o espaçamento de 35 cm x 35 cm entre plantas e na forma de quincôncio.

Para adubação de plantio foram utilizadas como fonte de nutrientes a torta de mamona, hiperfosfato de gafsa, sulfato de potássio, bórax e sulfato de zinco nas dosagens de 20 kg/ha de N, 80 kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 45 kg/ha de K<sub>2</sub>O, 1,2 kg/ha de bórax e 1,7 kg/ha de sulfato de zinco) e composto orgânico (7,0 t/ha). Para adubações de cobertura foi usado 20kg/ha de nitrogênio na forma de torta de mamona mais húmus de minhoca (10t/ha).

Utilizou-se o sistema de irrigação por gotejamento e “mulching” nos canteiros com plástico preto dupla face com espessura de 75 micra com a face branca voltada para cima, semelhante ao usado por Conti et al. (2002) para produção de morango em região de clima quente. As plantas foram protegidas com

a cobertura em forma de túnel baixo com plástico branco opaco conforme recomendado para a cultura do morango (MEDEIROS; SANTOS, 2005).

O manejo das plantas consistiu no “toalete” semanal com a retirada das folhas danificadas por doença e dos estolões.

Em relação ao aspecto fitossanitário foram diagnosticadas em campo a ocorrência de antracnose (*Colletotrichum* spp), mancha das folhas ou micosferela causada pelo fungo *Mycosphaerella* spp, ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) e pulgão (*Aphis gossypii*). O controle de pulgão e ácaro foi feito com calda sulfocálcica a 1% e o controle de doenças com calda viçosa.

Os frutos foram colhidos quando apresentavam mais de 70 % da epiderme avermelhada. Foram avaliados, em 31 colheitas, o número e peso de frutos. Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

Houve diferença significativa para todas as variáveis estudadas. A cultivar Camarosa apresentou maiores produtividades total e comercial. Produziu 29,02% de frutos pequenos (peso médio de 3,18g), 27,06% de frutos médios (peso médio de 6,22g) e 25,15% de frutos grandes (peso médio de 10,38g). O destaque dessa cultivar foi encontrado também por CESAR et al. (2011) em Santa Catarina em cultivo orgânico. Nesse primeiro plantio as cultivares San Andréas, Albion e Verona apresentaram maior potencial de produção do que Nina, Ara e Aromas nas condições testadas. (Tabela 1).

**Tabela 1.** Produtividade total (PRODTOT) e comercial (PRODCOM), peso médio de frutos grandes (PMFG) e percentagem de frutos grandes (FG) de cultivares de morangueiro em sistema orgânico de cultivo. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Umbaúba/SE, 2012.

Cultivares	PRODTOT (g/m <sup>2</sup> )	PRODCOM (g/m <sup>2</sup> )	PMFG (g/fruto)	F.G. %
Camarosa	1458,00 a	1370,75 a	10,38 a	25,13 b
San Andreas	892,50 b	830,75 b	10,67 a	51,78 a
Albion	891,25 b	836,50 b	11,95 a	64,08 a
Verona	864,00 b	727,75 b	11,62 a	52,77 a
Nina	407,00 c	356,50 c	9,69 ab	16,28 bc
Ara	294,25 d	259,00 c	4,61 b	4,54 c
Aromas	285,00 d	268,00 c	9,53 ab	29,54 b
<b>C.V. (%)</b>	<b>5,15</b>	<b>8,30</b>	<b>22,78</b>	<b>23,03</b>

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto ao tamanho do fruto apenas a cultivar Ara apresentou frutos menores com tamanho mais apropriado para industrialização. Para as demais cultivares, os frutos variaram de 9,53g (cv. Aromas) a 11,95 g (cv. Albion), tamanhos bons para comercialização. A cv. Aromas apesar de ter apresentado baixa produtividade, produziu fruto maior que o encontrado por Camargo (2008) no estado do Paraná em cultivo orgânico e convencional. Em percentagem de frutos grandes, as cultivares San Andréas, Albion e Verona superaram as demais com tamanhos de frutos adequados para comercialização “in natura”.

A cultivar Palomar não se adaptou ao cultivo em campo e foi totalmente dizimada por doenças.



## Conclusões

A cultivar Camarosa foi a mais produtiva, apresentando um tamanho de fruto adequado à comercialização “in natura”, nesse primeiro ano de avaliação de cultivares de morango em Sergipe. Essa cultivar apresenta grande potencial para ser recomendada para o estado de Sergipe, dependendo da repetibilidade dos resultados.

## Agradecimentos

Ao CNPq/ FAPITEC pela concessão da bolsa PIBIC e ao Banco Nordeste pelo apoio financeiro.

## Referências

BOTELHO, J. S. Situação atual da cultura do morangueiro no estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 198, p. 22-23, 1999.

CASTRO, R. L. **Comportamento de dez cultivares de morangueiro em cultivo orgânico**. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/index.php>>. Acesso em: 26 de agosto 2013.

CAMARGO, L. K. P. Produtividade e qualidade de cultivares de morangueiro em sistemas orgânico e convencional na região de Guarapuava-PR. 2008. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, PR, 2008.

CESAR, B. E.; COLLI, M. P.; NESELLO, R.; VERONA, L. A. F.; SCHWENGBER, J. E.; ANTUNES, L. E. C. Avaliação de cultivares de morango para produção orgânica no oeste de Santa Catarina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 7., 2011, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 2011.

CONTI, J. H.; MINAMI, K.; TAVARES, F. C. A. Produção e qualidade de frutos de morango em ensaios conduzidos em Atibaia e Piracicaba. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, n. 1, p. 10-17, março 2002.

DAROLT, M. R. **Morango**: Sistema orgânico apresenta viabilidade técnica econômica ecológica. 2003. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br/darmorang.htm>>. Acesso em: 26 de agosto de 2009.

DUARTE FILHO, J.; ANTUNES, L. E. C. Desempenho agrônômico de quatro cultivares francesas de morangueiro, em dois tipos de ambiente. In: ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 1., 2004, Pelotas. **Anais...** Pelotas, 2004.

DUARTE FILHO, J.; ANTUNES, L. E. C.; CUNHA, R. J. P.; ALVARENGA, D. A.; PEREIRA, G. E. Aspectos do florescimento e técnicas empregadas objetivando a produção precoce em morangueiros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 189, p.30-35, 1999.

EHLERS, E. **Agricultura sustentável**: origens e perspectivas de um novo paradigma. 2. ed. Guaíba, RS: Agropecuária, 1999. 157 p.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Pólos de produção do morango**. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/vertexto.php?codtexto=11>>. Acesso em: 29 agosto 2013.

MEDEIROS, A. R. M.; SANTOS, A. M. Práticas culturais. In: ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J. **Sistema de produção de morango..** Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2005. (Sistemas de produção, 5). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/index.htm>>.

REBELO, J. A.; BALARDIN, R. S. **A cultura do morangueiro**. 3. ed. Florianópolis: EPAGRI, 1997. 44 p. (Boletim Técnico, 46).

RONQUE, E. R. V. **Cultura do morangueiro**: revisão e prática. Curitiba: Emater-PR, 1998. 206 p.

SANTOS, A. M. Cultivares. In: SANTOS, A. M.; MEDEIROS, A. R. M. (Ed.). **Morango**: produção. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 24-30. (Frutas do Brasil, 40).

VERDIAL, M. F. **Frigoconservação e vernalização de mudas de morangueiro (Fragaria X ananassa Duch.) produzidas em sistemas de vasos suspensos**. 2004. 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

# Ganho de Peso de Cordeiros Terminados em Confinamento e Alimentados com Manipueira

***Erick Yanomami Barros Souza<sup>1</sup>; José Adelson Santana Neto<sup>2</sup>; Evandro Neves Muniz<sup>3</sup>; Gladston Rafael de Arruda Santos<sup>4</sup>; José Henrique de Albuquerque Rangel<sup>5</sup>; Edvilson Silva Castro Filho<sup>6</sup>***

## Resumo

A crescente procura pela carne ovina e por outros produtos dessa espécie requer melhorias nos sistemas de produção, principalmente no desempenho produtivo do rebanho, necessitando de estudos que permitam atender as necessidades nutricionais desses animais a um baixo custo de produção. Neste contexto a utilização de resíduos da indústria na alimentação animal apresenta, em algumas regiões, grande importância devido principalmente a diminuição dos custos de produção. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho de ovinos na fase terminação, alimentados com níveis crescentes de manipueira. Foram utilizados 29 cordeiros não castrados da raça Santa Inês com peso médio inicial de 24,76 kg e idade média de 167 dias. As dietas foram formuladas na relação 70% de volumoso e 30% de concentrado de forma a atender aos requerimentos nutricionais segundo o NRC (2007). Todos os tratamentos foram constituídos por feno de Tifton 85 (*Cynodon* spp.), rolão de milho e concentrado diferenciando-se pela inclusão de manipueira em níveis crescentes: 0 ml de manipueira; 500 ml de manipueira; 1000 ml de manipueira; 1500 ml de manipueira. Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para o peso final, GPT e GMD dos animais no presente trabalho. O peso final variou

<sup>1</sup> Graduando em Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, erickbarros@hotmail.com.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Sergipe, UFS, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Brasil, adelson@zootecnista.com.br.

<sup>3</sup> Engenheiro-agrônomo, Doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, evandro.muniz@embrapa.br.

<sup>4</sup> Prof. Adjunto, Depto. Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, gladstonrafael@ufs.br.

<sup>5</sup> Engenheiro-agrônomo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, Sergipe, josé.rangel@embrapa.br.

<sup>6</sup> Universidade Federal de Sergipe (UFS), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, São Cristóvão, SE, edvilson\_castro@hotmail.com.

de 34,29 kg para 34,87 kg em relação à inclusão da manipueira na dieta dos animais, sendo que o maior peso ocorreu quando a inclusão da manipueira foi de 1500 ml por dia. O ganho de peso diário médio entre os tratamentos foi de 163,17 g/dia e variando de 145,57 a 176 g/dia, respectivamente para os tratamentos sem adição de manipueira e 1500 ml de manipueira.

**Palavras-chave:** ovinos, mandioca, subproduto.

## Introdução

O Nordeste do Brasil apresenta como principal característica a bovinocultura como atividade pecuária principal, onde a ovinocultura é considerada uma atividade secundária. Outra característica da criação de ovinos é que ela é considerada uma atividade de familiar, onde há predominância de pequenos criadores sem a existência de um mercado organizado. Grande parte desta desorganização se deve a falta ou desconhecimento de novas técnicas que possibilite uma melhor produção e fornecimento de melhores animais para o mercado consumidor.

Nesse aspecto, alimentos chamados de alternativos, podem de certa forma melhorar a alimentação e nutrição dos animais em regiões onde apresentam déficit alimentar em certas épocas do ano. Os produtos alternativos ou subprodutos utilizados na alimentação animal provêm do beneficiamento das agroindústrias. Alguns subprodutos de indústria, como os da produção de farinha de mandioca (casca de mandioca, farinha de varredura) possuem potencial e disponibilidade para serem utilizados como alimento energético na alimentação de ruminantes (PEREIRA, 1987).

Neste contexto insere-se a manipueira, um subproduto líquido, de coloração amarelada, resultante da prensagem da massa de mandioca ralada para produção de farinha e extração e purificação da fécula (CURCELLI et al., 2008), produto este que pode ser incluso na dieta de pequenos ruminantes como um alimento energético de baixo ou nenhum custo, já que a manipueira, em sua grande maioria, é descartada no meio ambiente.

Praticamente são inexistentes estudos sobre a utilização de manipueira no Brasil e no mundo, sobretudo na alimentação animal sendo que o potencial deste subproduto na alimentação animal pode ser elevado.

Com base nestes aspectos, o presente trabalho foi realizado com intuito de avaliar o desempenho de ovinos na fase terminação, alimentados com níveis crescentes de manipueira.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no Campo Experimental Pedro Arle, pertencente a Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizado no município Frei Paulo-SE, no período de Janeiro a Março de 2013. Foram utilizados 29 cordeiros não castrados da raça Santa Inês, não castrados com peso médio inicial de 24,76 kg e idade média de 167 dias, provindos do rebanho da Embrapa Tabuleiros Costeiros, onde serão submetidos a quatro tratamentos baseados na matéria seca. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizado.

Antes do início do experimento os animais foram vermifugados para controle de parasitas internos. As dietas foram formuladas na relação 70% de volumoso e 30% de concentrado de forma a atender aos requerimentos nutricionais segundo o NRC (2007). Todos os tratamentos foram constituídos por feno de Tifton 85 (*Cynodon* spp.), rolão de milho e concentrado diferenciando-se pela inclusão de manipueira em níveis crescentes: 0 ml de manipueira; 500 ml de manipueira; 1000 ml de manipueira; 1500 ml de manipueira. O concentrado foi composto de milho, farelo de soja, calcário calcítico e sal mineral para ovinos. As composições das dietas encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição das dietas experimentais com base na matéria seca.

Dietas	Dietas Experimentais			
	0 ml	500 ml	1000 ml	1500ml
Feno de Tifton (%)	35	35	35	35
Concentrado (%)	30	30	30	30
Rolão (%)	35	35	35	35
Manipueira (ml)	0	500	1000	1500

A manipueira foi recolhida de casas de farinhas da região onde ficou armazenada em tambores plásticos de aproximadamente 200 litros, onde repousou por aproximadamente 10 dias, o dobro do recomendado por Pereira et al. (2012) tempo esse usado como margem de segurança para a volatilização do ácido cianídrico. Antes do fornecimento era feita a homogeneização da manipueira, para que o amido decantado se espalhe uniformemente pelo líquido.

Os animais foram alimentados em confinamento e mantidos em baias individuais, com água à vontade e suas respectivas doses diárias de manipueira. A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, pela manhã e pela tarde, sempre às 9h e às 16h, onde o alimento era pesado e oferecido. O fornecimento do alimento foi controlado para ter sempre entre 10 a 20% de sobras e ajustadas de acordo com o consumo dos animais. O período experimental foi de 70 dias com 10 dias para adaptação dos animais as baias e as dietas. Os animais foram pesados no início e a cada 20 dias, até o fim do experimento. As pesagens foram feitas com uma balança digital, sempre no período da manhã. Os dados obtidos foram usados para mensurar o ganho de peso total (GPT) e ganho médio diário (GMD).

Os dados coletados foram submetidos a análises de variância e regressão para os parâmetros que apresentaram diferença significativa, em função da inclusão do subproduto na dieta. Não apresentou diferença significativa às médias foram comparadas utilizando-se o teste t de Student a 5% de significância utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (2002).

## Resultados e Discussão

Conforme descrito na Tabela 2, observou-se que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) para o peso final, GPT e GMD dos animais no presente trabalho.

**Tabela 2.** Valores médios para peso inicial (PI), peso final (PF), ganho médio diário (GMD), ganho de peso total (GPT), coeficiente de variação (CV) e probabilidade ( $Pr>F$ ) dos ovinos alimentados com manipueira.

Variáveis	Tratamentos				CV	Pr > F
	0 ml	500 ml	1000 ml	1500 ml		
PI (kg)	25,54	24,86	24,34	24,31	16,49	0,9354
PF (kg)	34,29	34,64	34,43	34,87	14,14	0,9963
GPT (kg)	8,74	9,78	10,09	10,56	18,56	0,3116
GMD (g/dia)	145,57	163,00	168,14	176,00	18,56	0,3064

Médias seguidas de letra diferentes na mesma linha diferem significativamente entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

O peso final variou de 34,29 kg para 34,87 kg em relação à inclusão da manipueira na dieta dos animais, sendo que o maior peso ocorreu quando a inclusão da manipueira foi de 1500 ml por dia. Apesar de não apresentar diferença estatística, a inclusão da manipueira proporcionou uma diferença de ganho médio total de 1,82 kg entre os tratamentos sem inclusão de manipueira e o tratamento com a inclusão de 1500 ml do subproduto. O GPT do presente estudo foi superior aos valores encontrados por Almeida et al. (2009), que trabalharam com a inclusão de 0, 250, 500, 750 e 1000 ml de manipueira e encontraram um ganho de peso total de 0,62; 1,40; 1,14; 1,46 e 0,96 kg respectivamente.

O ganho de peso diário médio entre os tratamentos foi de 163,17 g/dia e variando de 145,57 a 176 g/dia, respectivamente para os tratamentos sem adição de manipueira e 1500 ml de manipueira. Estes resultados são superiores aos encontrados por Faria et al. (2011), onde trabalharam com o processamento da casca de mandioca encontrando valores de ganho médio diário de peso entre 138,51 a 168,15 g/dia e foi maior para o suplemento com casca de mandioca hidrolisado em comparação ao tratamento casca de mandioca e ensilada por 30 dias, no entanto o GMD mostrou-se inferior ao

obtido por Conceição et al. (2009) para dietas para ovinos contendo até 48% de raspa integral da mandioca, com médias de 252,7g/dia e valores entre 220,0 a 282,5 g/dia. Observa-se que no presente trabalho a adição de 1500 ml de manipueira proporcionou um aumento de 30,43 g/dia a mais em comparação a dieta que não continha manipueira, o que já podia ser esperado, uma vez que a manipueira é um subproduto rico em energia, devido sua origem (raiz da mandioca), Oliveira et al. (2012), encontraram valores de amido quantitativo de 35,62% na manipueira em pó, o que caracterizar este subproduto como uma fonte alternativa rica em energia.

## Conclusões

A inclusão de manipueira na dieta de ovinos não alterou o desempenho na fase de terminação.

## Referências

- ALMEIDA, S. E. M.; SILVA A. M. da; LIMA, J. P.; MATOS, A. M.; ZACHARIAS, F.; REGIS, U. O. Avaliação do potencial nutritivo da Manipueira na dieta de ovinos deslanados. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, RS, v. 4, p. 1434-1438, 2009.
- CONCEIÇÃO, W. L. F.; FIGUEIRÊDO, A. V.; NASCIMENTO, H. T. S.; VASCONCELOS, V. R.; ALVES, A. A.; DANTAS FILHO, L. A. Valor nutritivo de dietas contendo raspa integral da mandioca para ovinos confinados. **Acta Scientiarum Animal Sciences.**, Maringá, v. 31, p. 397-402, 2009.
- CURCELLI, F.; BICUDO, S. J.; ABREU, M. L.; AGUIAR, E. B.; BRACHTVOGEL, E. L. Uso da mandioca como fonte na dieta de ruminantes domésticos. **Revista Raízes Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 4, p. 66-80, 2008.
- FARIA, P. B.; SILVA, J. N.; RODRIGUES, A. Q.; TEIXEIRA, P. D.; MELO, L. Q.; COSTA, S. F.; ROCHA, M. F. M.; PEREIRA, A. A. Processamento da casca de mandioca na alimentação de ovinos: desempenho, características de carcaça, morfologia ruminal e eficiência econômica. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, p. 2929-2937, 2011.



NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants:** sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington, D.C.: National Academy Press, 2007. 362 p.

OLIVEIRA, A. G.; BARBOSA, R. J.; OLIVEIRA, V. S.; SANTOS, G. R. A.; VIEIRA, J. S.; SANTOS SOBRINHO, D. C.; SANTANA, J. A. Avaliação químico-bromatológica da manipueira e sua possibilidade como fonte nutricional na alimentação animal. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 7., 2012, Maceió. **Anais...** Maceió, 2012. 1 CD-Rom,

PEREIRA, J. P. Utilização da raspa e resíduos industriais da mandioca na alimentação animal. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n. 13, p. 28-41, 1987.

PEREIRA, V. L. A.; OLIVEIRA, J. C. V.; SANTOS, D. C.; SANTOS FILHO, A. S.; SILVA, M. C.; SILVA, V. M.; ALVES, F. A. L.; SILVA, L. R. Adição do subproduto da mandioca 'manipueira' na dieta de vacas Girolando em lactação. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 7., 2012, Maceió. **Anais...** Maceió, 2012. 1 CD-Rom.

# Avaliação de Acessos de Coqueiro-anão em Função dos Descritores de Inflorescência

***Rejanne do Couto Silva<sup>2</sup>; Iris Brito de Oliveira Ribeiro<sup>3</sup>; Daniela Maria Andrade Santana<sup>4</sup>; Aline de Oliveira Nunes<sup>5</sup>; Ana Beatriz Costa Czermainski<sup>6</sup>; Semíramis Ramalho Rabelo Ramos<sup>7</sup>***

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar, nas condições de conservação dos acessos e por meio da lista de descritores, os acessos denominados anão-verde-do-Brasil-de-Jiqui (AVBrJ) e anão-amarelo-da-Malásia (AAM), com relação aos descritores de inflorescência. A avaliação foi realizada por meio de oito descritores recomendados pelo Bioversity International: número total de flores masculinas e femininas, número total de flores femininas “normais” e de “anormais”, duração total do ciclo reprodutivo, duração do ciclo reprodutivo masculino e do ciclo feminino e diâmetro da flor feminina. Foram obtidas estatísticas descritivas para cada acesso e realizada a análise de variância para a comparação dos acessos.

Houve diferença significativa entre os dois acessos para todos os descritores avaliados, exceto o diâmetro da flor. O acesso AVBrJ apresentou maior número absoluto de flores masculinas e femininas, bem como maior número de flores

<sup>1</sup> Parte do trabalho de Iniciação Científica do primeiro autor, apresentado no Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, Belém do Pará, 2012.

<sup>2</sup> Graduanda em Ciências Biológicas, Estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. rejane\_imk@hotmail.com.

<sup>3</sup> Graduada em Ciências Biológicas, ex-estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. irisboribeiro@hotmail.com.

<sup>4</sup> Graduanda em Ciências Biológicas, ex-estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. dannielasantana@live.com.

<sup>5</sup> Estudante de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Estadual do Norte Fluminense/Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal. Campos dos Goytacazes, RJ. alinnenunes@live.com.

<sup>6</sup> Engenheira-agrônoma, Doutora em Estatística e Experimentação Agronômica, Pesquisadora Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS. ana.czermainski@embrapa.br.

<sup>7</sup> Engenheira-agrônoma, Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. semiramis.ramos@cpatc.embrapa.br.

femininas “normais”. Contudo, a relação entre o nº de flores masculinas e flores femininas “normais” foi maior para o acesso AAM. Foi possível avaliar, de forma preliminar, o comportamento dos dois acessos. Recomenda-se avaliar a consistência dos descritores, em mais épocas do ano, e avaliar, de forma conjunta, outros descritores relativos à inflorescência propostos na lista descritiva.

**Palavras-chave:** Banco Ativo de Germoplasma, *Cocos nucifera* L., fenologia, recursos genéticos.

## Introdução

O coqueiro-anão (*Cocos nucifera* L.) é uma planta de porte baixo, precoce, com reprodução predominantemente por autofecundação, monóica, produzindo flores unissexuais em uma mesma inflorescência do tipo paniculada e axilar. A inflorescência é formada por um denso aglomerado de flores masculinas e femininas. Dentre os fatores de produção, o número de flores femininas por inflorescência é, a princípio, um dos mais importantes (FRÉMOND et al., 1975; ARAGÃO et al., 2002). Os programas de melhoramento genético no Brasil priorizam a variedade anã, a qual é a mais utilizada comercialmente para a produção de água de coco. Entretanto, o comportamento de diferentes variedades se diferencia com relação às condições edafoclimáticas diversas, o que torna necessário avaliar os materiais genéticos em diferentes ambientes. A Embrapa Tabuleiros Costeiros mantém, em seu Banco Ativo de Germoplasma (BAG), acessos de coqueiro-anão que, nesta condição ambiental, ainda não foram avaliados quanto aos descritores de inflorescência preconizados pelo Bioversity International. O objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio da lista de descritores recomendada para a espécie, dois acessos de coqueiro-anão com relação aos descritores inflorescência e morfologia da flor.

## Material e Métodos

Os dados foram obtidos por meio de coletas diárias nas plantas do BAG, sendo avaliados dois acessos de coqueiro-anão: anão-verde-do-Brasil-de-Jiqui (AVrBrJ) e o anão-amarelo-da-Malásia (AAM). Os acessos estavam plantados sob condição irrigada, no espaçamento de 7,5 m x 7,5 m x 7,5 m, em disposição triangular, estabelecidos em cinco parcelas de 16 plantas úteis/parcela, dispostos no delineamento experimental em blocos casualizados, em cinco repetições. A avaliação foi realizada por meio de oito descritores (IPGRI, 1995): número total de flores masculinas (NTFM) e femininas (NTF), número total de flores femininas “normais” (NTFN) e “anormais” (NTFA), duração total do ciclo reprodutivo (DCT), do ciclo reprodutivo masculino (DCMAS), feminino (DCFEM) e diâmetro da flor feminina (DFF). A partir das variáveis originais foram calculadas a razão NTFM/ NTF e o percentual de flores femininas normais NTFN/ NTF. Foram obtidas estatísticas descritivas para cada acesso. As variáveis de contagem foram transformadas por raiz quadrada de  $x + 0,5$  para viabilizar a aplicação da anova. Foi efetuada a análise de variância segundo o modelo do delineamento, considerado o efeito de plantas.

## Resultados e Discussão

Houve diferença significativa entre os dois acessos para todos os descritores avaliados, exceto o DFF (Tabela 1). Não houve efeito significativo de planta dentro de bloco ( $p > 0,10$  para F associado a QM Erro Dentro) e dessa forma, optou-se por utilizar todas as plantas como repetições, de forma a aumentar a precisão experimental. Constatou-se que o acesso de coqueiro-anão-verde-do-Brasil-de-Jiqui apresentou maior número absoluto de flores masculinas (10.199) e femininas (169), bem como maior número de flores femininas “normais” (137). No entanto, percentualmente, as flores femininas “normais” (91,46) (Tabela 1) e a relação entre o nº de flores masculinas e flores femininas “normais” (186,62) foram maiores para o acesso anão-amarelo-da-Malásia. O valor médio para o descritor diâmetro da flor feminina (DFF) foi de 25 mm, não havendo diferença entre as médias para os dois acessos (Tabela 1). Quanto

ao ciclo, ressalta-se o maior número de dias do ciclo reprodutivo feminino para o anão-Amarelo-da-Malásia (13,27 dias). Este dado confirma o que alguns autores relatam com relação à fase feminina relativamente curta para o Anão-verde-do- Brasil-de-Jiqui, quando comparado aos demais “anões” (RIBEIRO et al., 1999). Nas condições deste trabalho, o ciclo total foi superior para o acesso anão-verde-do-Brasil-de Jiqui, com média de 21,84 dias (Tabela 1) e valores mínimos e máximos de, respectivamente, 17 e 26 dias.

**Tabela 1.** Resultados do teste F (anova) relativo aos acessos de coqueiro-anão-Amarelo-da Malásia e anão-verde-do-Brasil-de-Jiqui no período de fevereiro a junho de 2012. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, 2012.

Acesso	Descritores					
	NTFM	NTFF	NFFN	PerFFN	NFFA	DFF
Anão-amarelo-da-Malásia	8238	79	75	91,46	5	25,33
Anão-verde-do-Brasil-de Jiqui	10199	169	137	77,80	32	25,19
P>Fcalc	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,51
CV(%)	14,48	25,95	30,57	17,27	32,85	9,04

## Conclusões

- Houve diferença significativa entre os dois acessos para todos os descritores avaliados, exceto o diâmetro da flor feminina.
- Sugere-se avaliar a consistência dos descritores, em mais épocas do ano e avaliar, de forma conjunta, outros descritores relativos à inflorescência propostos na lista descritiva.

## Referências

ARAGÃO, W. M.; RIBEIRO, F. E.; TUPINAMBÁ, E. A.; SIQUEIRA, E. R. Variedade e híbridos do coqueiro In: ARAGÃO, W. M. (Ed.). Coco: pós-colheita. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 76 p. il., color. (Frutas do Brasil, 29).

FRÉMOND, Y. ; ZILLER, R.; NUCÉ DE LAMOTHE, M. **El cocotero**: técnicas agrícolas y producciones tropicales. Barcelona: Editorial Blume, 1975. 236 p.

IPGRI. **Descriptors for coconut (*Cocos nucifera* L.)**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1995.

PASSOS, C. D.; PASSOS, E. E. M.; ARAGAO, W. M. Floração e frutificação de três cultivares de Coqueiro anão. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2007. RIBEIRO, F. E.; SIQUEIRA, E. R. ARAGÃO, W. M.; TUPINAMBÁ, E. A. **O coqueiro anão no Brasil**. Aracaju: Embrapa-CPATC, 1999. (Embrapa-CPATC. Documentos, 8).

# Impactos de Sistema de Colheita da Cana-de-açúcar sobre a Biomassa Microbiana do Solo e as Atividades de Enzimas dos Ciclos de C, P e S

---

*Yasmim Sotero Bomfim Fraga<sup>1</sup>; Thais de Jesus Santos<sup>1</sup>; Maria José Bryanne de Araújo<sup>1</sup>; Rafaela Moura Bezerra<sup>1</sup>; João Lima de Menezes Jr.<sup>2</sup>; Érika Teixeira dos Anjos Brandão<sup>3</sup>; Paulo de Albuquerque Silva<sup>4</sup>, Marcelo Ferreira Fernandes<sup>5</sup>*

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi quantificar as alterações no funcionamento biológico do solo (FBS), descrito pelo conjunto das variáveis microbiológicas respiração basal do solo, atividade de enzimas do ciclo do C (sacarase, xilanase e beta glicosidase), P (fosfatase ácida) e S (arilsulfatase), e teor de glomalina do solo, em resposta à substituição do sistema de colheita de cana-de-açúcar com despalha a fogo pelo sistema sem queima (cana-crua). Amostras de solo (Argissolo amarelo) foram coletadas de três áreas produtoras de cana-de-açúcar de Alagoas e analisadas quanto as variáveis citadas acima. Análises multivariadas foram empregadas para avaliar os efeitos do sistema de colheita sobre FBS. Em duas das áreas, correspondentes aos maiores tempos de conversão para o sistema de colheita de cana-crua (6 e 11 anos), o FBS foi alterado pelo tipo de colheita. Nestes casos, solos sob cana-crua apresentaram FBS mais similares aos da mata de referência. A atividade de arilsulfatase e os teores de glomalina foram as variáveis mais sensíveis ao tipo de colheita empregado. A substituição de cana-queimada por cana-crua é capaz de

---

<sup>1</sup> Ciências Biológicas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, yasmim.bomfim@hotmail.com.

<sup>2</sup> Agronomia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>3</sup> Ciências Biológicas, Doutor, Ciências Biológicas, Embrapa Tabuleiros Costeiros.

<sup>4</sup> Agrônomo, Doutor, Fitotecnia, Embrapa Tabuleiros Costeiros.

<sup>5</sup> Agrônomo, Doutor, Ciência do Solo, Embrapa Tabuleiros Costeiros, marcelo.Fernandes@embrapa.br.

reconstituir parcialmente o FBS observado sob condições não manejadas; porém sugere-se que a intensidade desta resposta de FBS seja dependente do tempo após conversão de cana-queimada para cana-crua.

**Palavras-chave:** arilsulfatase, cana-crua, cana-queimada, enzimas do solo, glomalina

## Introdução

Nas últimas décadas, a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) aumentou sua importância no cenário econômico devido ao avanço na produção de etanol no Brasil. Atualmente, questões ambientais encontram-se em destaque, o que influenciou a gradual mudança no sistema de colheita de cana-queimada para o de cana-crua (sem queima). No sistema tradicional de colheita, a cana é queimada a fim de melhorar a eficiência da colheita manual, já que o fogo remove as folhas e reduz o risco de acidentes causados por animais peçonhentos. Já a colheita crua é feita por colheitadeiras mecânicas, sem prévia queima das folhas. A perda de qualidade do solo decorrente do uso de práticas agrícolas inadequadas e evidenciada pela erosão e redução da fertilidade do solo contribui para a mudança no sistema de colheita. No manejo de colheita de cana-crua, folhas e ponteiros são cortados e depositados na superfície do solo, formando uma cobertura morta. Esta cobertura modifica o ambiente do solo em vários aspectos, como a proteção contra erosão, conservação da umidade, atividade microbiana e da matéria orgânica (FURLANI NETO, 1994). O aporte de resíduos vegetais é indispensável para a qualidade dos solos (QS), especialmente os de tabuleiros costeiros, que apresentam baixos teores de matéria orgânica e reduzida agregação (FERNANDES et al., 2011). Segundo estudos recentes, há covariação entre variáveis microbiológicas e variáveis importantes para a qualidade do solo, como taxa de infiltração, matéria orgânica e agregação do solo nos tabuleiros costeiros de Alagoas e Sergipe. (SANT'ANNA et al., 2009; CHAER et al., 2009; FERNANDES et al., 2011). Apesar de ignoradas por até pouco tempo atrás, as variáveis biológicas têm sido incluídas em modelos de qualidade de solo mais recentemente. Dentre as variáveis microbiológicas, têm se destacado a biomassa e respiração microbianas e a atividade enzimática. (BANDICK;



DICK, 1999; WANG et al., 2008). Portanto, este trabalho teve como objetivo quantificar as alterações na biomassa e respiração microbianas, na atividade de enzimas do ciclo do C, P e S, e nos teores de glomalina do solo em resposta à substituição do sistema de colheita de cana-de-açúcar com despalha a fogo pelo sistema sem queima.

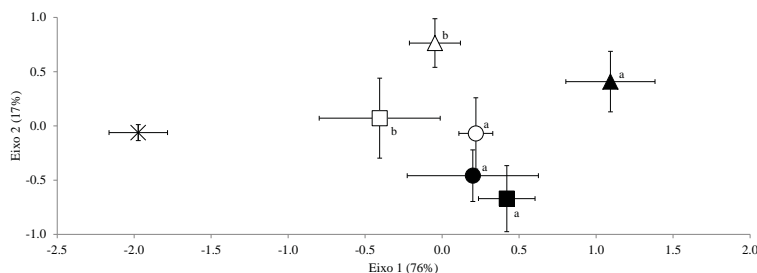
## Material e Métodos

Amostras de solo de três áreas sob cultivo de cana-de-açúcar, cada uma delas contendo parcelas submetidas à colheita de cana-crua e de cana-queimada, foram coletadas de 0 a 10 cm de profundidade para este estudo. As áreas 1 e 2 são localizadas na Usina Coruripe (Coruripe, AL) e a área 3, na Usina Caeté (São Miguel dos Campos, AL). Nestas áreas, as parcelas sob cana-crua foram convertidas para este sistema de colheita há 3, 6 e 11 anos respectivamente. O solo de todas as áreas é classificado como Argissolo Amarelo. Amostras de solo sob mata nativa, em solo similar aos cultivados com cana-de-açúcar, foram utilizadas como referência. As amostras foram enviadas ao laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Tabuleiros Costeiros, peneiradas em malha de 2 mm de abertura e armazenadas a 4°C até o início das análises. Foram avaliadas as variáveis respiração basal (SILVA et al., 2007), as atividades das enzimas fosfatase ácida,  $\beta$ -glicosidase, aril-sulfatase (TABATABAI, 1994), xilanase e sacarase (SCHINNER; VON MERSI, 1990) e glomalina facilmente extraível (WRIGHT; UPADHYAYA, 1998). Análises multivariadas foram empregadas para avaliar os efeitos do sistema de colheita sobre o funcionamento biológico do solo (FBS), descrito pelas alterações conjuntas das variáveis biológicas analisadas.

## Resultados e Discussão

A resposta do FBS ao tipo de colheita de cana-de-açúcar foi dependente da área amostrada. Para a área 1, não houve diferença entre os tipos de colheita crua e queima, ao passo que estas diferenças foram observadas para as áreas 2 e 3 (Figura 1). O maior tempo de conversão de cana-queimada para cana-crua

nas áreas 2 (6 anos) e 3 (11 anos), comparativamente à área 1 (3 anos), pode ser um dos fatores que explicam este comportamento.



**Figura 1.** Mudanças no funcionamento biológico do solo (FBS) em função do tipo de colheita de cana-de-açúcar em três áreas de Alagoas. Círculos, quadrados e triângulos representam diferentes áreas amostradas; sendo os símbolos abertos indicativos de colheita crua e os fechados de colheita com queima. A mata utilizada como referência de solo não cultivado foi representada por um x no gráfico. Barras de erros horizontais e verticais expressão  $\pm 1$  D.P. da média dos escores nos eixos 1 e 2, respectivamente. Para comparações dentro de uma mesma área, símbolos seguidos de mesma letra não diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de MRPP. Valores percentuais entre parênteses indicam a proporção da variabilidade total dos dados representada pelos eixos 1 e 2.

Estas mudanças no FBS em função da adoção da colheita de cana-crua são caracterizadas por incrementos na atividade de arilsulfatase e teores de glomalina nas áreas 2 e 3, por incrementos em respiração basal do solo na área 2 apenas, e em betaglicosidase e xilanase na área 3 apenas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Atividade de xilanase (Xil), sacarase (Sac), beta-glicosidase (βGlic) e fosfatase ácida (Pase), respiração basal do solo (RBS) e glomalina em solos (0-10 cm de profundidade) cultivados com cana-de-açúcar colhida crua ou após queima, em três áreas de Alagoas.

	Xil μg glicose	Sac g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	βGlic μg PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	Pase μg PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	ArilS	RBS μg C-CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	Globalina μg BSA g <sup>-1</sup>
Área 1							
Queima	3,8	64,3	42,7	213,6	41,5	6,8	6,0
Crua	6,3	62,5	45,2	203,2	39,0	8,2	5,7
P	0,15	0,59	0,61	0,83	0,55	0,48	0,20
Área 2							
Queima	3,7	68,8	35,6	240,3	38,5	3,9	5,8
Crua	6,0	71,5	61,1	206,5	70,5	8,7	7,5
P	0,13	0,58	0,11	0,54	0,01	0,05	0,01
Área 3							
Queima	7,5	56,8	17,6	210,7	9,5	6,2	7,2
Crua	12,6	65,5	32,1	233,7	63,3	10,0	8,3
P	0,05	0,24	<0,01	0,35	<0,01	0,09	0,02

## Conclusões

A substituição de cana-queimada por cana-crua é capaz de reconstituir parcialmente o FBS observado sob condições não manejadas; porém sugere-se que a intensidade desta resposta de FBS seja dependente do tempo após conversão de cana-queimada para cana-crua. A atividade de arilsulfatase e os teores de glomalina são as variáveis mais sensíveis ao tipo de colheita empregado.

## Agradecimentos

À Usina Coruripe e à Usina Caetés pela disponibilização das áreas e de infraestrutura para coleta das amostras.

## Referências

- BANDICK, A. K.; DICK, R. P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, US, v. 31, p. 1471-1479, 1999.
- CHAER, G. M.; FERNANDES, M. F.; MYROLD, D.; BOTTOMLEY, P. Shifts in microbial community composition and physiological profiles across a gradient of induced soil degradation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, p. 1327-1334, 2009.
- FERNANDES, M. F.; BARRETO, A. C.; MENDES, I. C.; DICK, R. P. Short-term response of physical and chemical aspects of soil quality of a kaolinitic Kandudalfs to agricultural practices and its association with microbiological variables. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 142, p. 419-427, 2011.
- FURLANI NETO, V. L.; RIPOLI, T. C.; VILA NOVA, N.A. Biomassa de cana-de-açúcar: energia contida no palhço remanescente de colheita mecânica. **Stab – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 15, p. 24-27, 1997.
- SANT ´ANNA, S. A. C.; FERNANDES, M. F.; IVO, W. M. P. M.; COSTA, J. L.S. Evaluation of soil quality indicators in sugarcane managment in Sandy loam soil. **Pedosphere**, Nanging, CN, v. 19, p. 312-322, 2009.
- SCHINNER, F.; MERSE, V. W. Xylanase, CM-Cellulase, and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, GB, v. 22, n. 4, p. 511-515, 1992.
- TABATABAI, M. A. Soil Enzymes. In: WEAVER, W. R. et al. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: SSSA, 1994. Part 2: Microbiological and biochemical properties. p. 775-833.
- WANG, Q. K.; WANG, S. L.; LIU, Y. X. Responses to N and P fertilization in a young Eucalyptus dunnii plantation: Microbial properties, enzyme activities and dissolved organic matter. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 40, p. 484-490, 2008.
- WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant Soil**, Hague, HO, v. 198, p. 97-107, 1998.



---

*Tabuleiros Costeiros*



Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento

